

**EKSPLORASI DAN UJI POTENSI KHAMIR SEBAGAI AGENS
PENDEGRADASI FUNGISIDA BERBAHAN AKTIF
METIL TIOFANAT SECARA *IN VITRO***

**Oleh
DIVA PUTRI DWI NOVIANA**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2018

**EKSPLORASI DAN UJI POTENSI KHAMIR SEBAGAI AGENS
PENDEGRADASI FUNGISIDA BERBAHAN AKTIF
METIL TIOFANAT SECARA *IN VITRO***

OLEH

DIVA PUTRI DWI NOVIANA

145040201111029

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2018**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di suatu perguruan tinggi manapun, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Agustus 2018

Diva Putri Dwi Noviana



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Eksplorasi dan Uji Potensi Khamir Sebagai Agens
Pendegradasi Fungisida Berbahan Aktif Metil Tiofanat
Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Diva Putri Dwi Noviana

NIM : 145040201111029

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D
NIP. 19551212 198003 2 003

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP
NIK. 201304 841014 1 001

Diketahui,
Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

Penguji I,

Penguji II,

Dr. Ir. Retno Dyah Puspitarini, MS.
NIP. 19580112 198203 2 002

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP
NIK. 201304 841014 1 001

Penguji III,

Penguji IV,

Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D
NIP. 19551212 198003 2 003

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Tanggal Lulus :

RINGKASAN

Diva Putri Dwi Noviana. 145040201111029. Eksplorasi dan Uji Potensi Khamir sebagai Agens Pendegradasi Fungisida Berbahan Aktif Metil Tiofanat Secara *In Vitro*. Dibawah Bimbingan Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D dan Antok Wahyu Sektiono SP., MP.

Residu pestisida yang terjadi pada lahan pertanian umumnya akibat penggunaannya yang kurang terkontrol. Jenis fungisida sistemik seperti metil tiofanat masih banyak digunakan dikalangan petani tanaman semusim maupun tahunan. Untuk dapat mengurangi residu pestisida yaitu dengan menggunakan bioremediasi yang memanfaatkan mikroorganisme untuk mendegradasi residu pestisida sehingga tingkat toksisitasnya dapat berkurang di lingkungan. Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan dalam mendegradasi fungisida yaitu khamir. Saat ini penelitian mengenai potensi khamir untuk mendegradasi fungisida masih belum banyak dilakukan. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengkaji khamir yang ditemukan pada lahan terkena residu fungisida metil tiofanat dan mengkaji potensi sebagai pendegradasi fungisida tersebut.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Januari hingga Juni 2018. Penelitian ini melalui beberapa tahap yaitu persiapan penelitian terdiri dari sterilisasi alat, pembuatan media pertumbuhan khamir, pengambilan sampel tanah yang diduga tercemar fungisida berbahan aktif metil tiofanat, isolasi dan identifikasi jamur patogen, pembuatan stok kultur khamir, dan pembuatan larutan stok fungisida. Identifikasi khamir terdiri dari isolasi dan pemurnian khamir serta identifikasi secara mikroskopis dan makroskopis. Uji adaptasi khamir dilakukan terhadap fungisida metil tiofanat, sedangkan uji degradasi metil tiofanat dilakukan secara *in vitro*.

Hasil dari eksplorasi diperoleh 4 isolat yaitu *Saccharomyces* sp. 1, *Candida* sp. 1, *Schizosaccaromyces* sp., *Pichia* sp. 1 dan 9 khamir dari koleksi laboratorium yaitu *Pichia* sp. 2, *Pichia* sp. 3, *Saccharomyces* sp. 2, *Candida* sp. 2, *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. 3, *Candida* sp. 4, dan *Pichia* sp. 4. Uji adaptasi khamir menggunakan rancangan acak lengkap dengan 6 perlakuan yaitu 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 kali konsentrasi anjuran dengan 3 ulangan. Parameter yang diamati yaitu panjang diameter koloni khamir di media PDA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 13 khamir pada uji adaptasi masih dapat hidup hingga 5 kali konsentrasi anjuran fungisida metil tiofanat namun terdapat penurunan dari panjang diameter khamir seiring dengan meningkatnya konsentrasi fungisida. Selanjutnya yaitu uji degradasi untuk melihat kemampuan khamir dalam mengurangi tingkat toksisitas fungisida metil tiofanat dengan mengamati pertumbuhan koloni *Alternaria porri* sebagai indikatornya. Uji degradasi menggunakan rancangan acak lengkap dengan 15 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut terdiri dari 13 khamir dan 2 kontrol. Kontrol positif yaitu media cair yang ditambahkan fungisida sesuai konsentrasi anjuran tanpa penambahan khamir, dan kontrol negatif yaitu media cair tanpa pemberian fungisida dan khamir. Hasil uji degradasi rerata diameter koloni *A. porri* paling panjang pada yaitu pada perlakuan kontrol negatif (7,40cm) dan terendah yaitu pada kontrol positif (4,67cm). Pada perlakuan di hari terakhir khamir *Issatchenkia* sp. memiliki rerata diameter tertinggi (6,27cm) dibandingkan *Saccharomyces* sp. 1 (5,33cm), *Candida* sp. 1 (4,90cm), *Schizosaccaromyces* sp. (4,63cm), *Pichia* sp. 1 (5,57cm), *Pichia* sp. 2 (5,57cm), *Pichia* sp. 3 (5,17cm), *Saccharomyces* sp. 2 (5,90cm), *Candida* sp. 2 (6,07cm), *Debaryomyces* sp. (4,67cm), *Candida* sp. 3 (5,87cm), *Candida* sp. 4 (5,17cm), *Pichia* sp. 4 (4,80cm).

SUMMARY

Diva Putri Dwi Noviana. 145040201111029. Yeast Exploration and Potential Test as Degradation Agents of Methyl Thiofanate Fungicide *In Vitro*. Supervised by Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D and Antok Wahyu Sektiono SP., MP.

Pesticide residues in agricultural land are caused by poorly controlled pesticide use. Systemic fungicides such as methyl thiofanate are still widely used in annual and perennial plant. To reduce pesticide residues can be done by using microorganisms to degrade the pesticide residues so that the toxin can be reduced in the environment. Yeast is one of the microorganisms that can be used to degrade fungicides. Recently research about potential of yeasts to degrade the fungicide is still not much done. The purpose of this study was to examine the potential of yeasts isolated in the soil methyl thiofanate fungicide residues as agent to degrade methyl thiofanate residue.

This study was conducted in Laboratory of Plant Diseases, Plant Pests and Disease Department, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya Malang from January to June 2018. The study was carried out in several stages, namely tool sterilization, manufacturing of yeast growth media, soil sampling which was suspected to be contaminated by methyl thiofanate fungicides, isolation and identification of pathogenic fungi, yeast culture stocks, and preparing fungicide stock solutions. Identification and purification of yeast from microscopically and macroscopically. The yeast adaptation test was carried out on fungicides with the active matter methyl thiofanate, while the methyl thiofanate degradation was carried out in vitro.

The study from exploration are 4 isolates of yeast namely *Saccharomyces* sp. 1, *Candida* sp. 1, *Schizosaccaromyces* sp., *Pichia* sp. 1. This study also use 9 genus of yeast collection from laboratory of plant disease, namely *Pichia* sp. 2, *Pichia* sp. 3, *Saccharomyces* sp. 2, *Candida* sp. 2, *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. 3, *Candida* sp. 4, and *Pichia* sp. 4. The yeast adaptation test was carried out using a completely randomized design with 6 treatments, namely 0, 1, 2, 3, 4, and 5 times of recommended concentration threatment repeated 3 times. The parameters observed were the diameter of the yeast colony in PDA media. That all of the yeast were able to life after time methyl thiofanate fungicide, however there was decrease in the diameter of yeast along with increasing fungicide concentration. Furthermore, the degradation test to see the ability of yeast in reducing the level of toxicity of methyl thiofanate fungicide by observing the growth of *Alternaria porri* colonies as the indicator. Degradation test using a completely randomized design with 15 treatments and 3 replicates. The treatment consisted of 13 yeasts and 2 controls. Positive control is liquid media which was added with fungicide according to recommended concentration without addition of yeast, and negative control is liquid medium without fungicide and yeast. The results of the average degradation test of the diameter of *A. porri* colony were in the negative control (7.40cm) and the lowest was in the positive control (4.67cm). In the treatment on the last day of yeast *Issatchenkia* sp. has the highest average diameter length (6.27cm) compared to *Saccharomyces* sp. 1 (5.33cm), *Candida* sp. 1 (4.90cm), *Schizosaccaromyces* sp. (4.63cm), *Pichia* sp. 1 (5.57cm), *Pichia* sp. 2 (5.57cm), *Pichia* sp. 3 (5.17cm), *Saccharomyces* sp. 2 (5.90cm), *Candida* sp. 2 (6.07cm), *Debaryomyces* sp. (4.67cm), *Candida* sp. 3 (5.87cm), *Candida* sp. 4 (5.17cm), *Pichia* sp. 4 (4.80cm).

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Eksplorasi dan Uji Potensi Khamir sebagai Agens Pendegradasi Fungisida Berbahan Aktif Metil Tiofanat secara *In Vitro*”.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D selaku Pembimbing Utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. sebagai pembimbing pendamping atas pengarahan, bimbingan dan sarannya, serta semua pihak yang telah membantu dalam kelancaran penulisan skripsi serta menyampaikan terima kasih kepada kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan dukungan atas terlaksananya penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan skripsi ini ada kekurangan. Semoga penulisan skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membacanya.

Malang, Agustus 2018

Diva Putri Dwi Noviana

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Kabupaten Bangkalan pada tanggal 2 November 1995 dari pasangan Bapak Mohamad Kidam dan Ibu Emmi Narti. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara.

Riwayat pendidikan penulis pernah menempuh taman kanak-kanak di TK Dharma Wanita Kabupaten Bangkalan dari tahun 2000 sampai 2002, lalu melanjutkan pendidikan di SDN Demangan 1 pada tahun 2002 sampai 2008. Pada tahun 2008 sampai 2011 melanjutkan pendidikan di SMPN 4 Bangkalan, kemudian menempuh pendidikan di SMAN 3 Bangkalan pada tahun 2011 sampai 2014. Tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam kegiatan organisasi, kepanitiaan, dan asisten praktikum diantaranya menjadi pengurus harian Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman (Himapta) 2017 sebagai anggota Departemen Informasi dan Komunikasi (Infokom). Kepanitiaan yang diikuti diantaranya anggota Divisi Transportasi Akomodasi dan Perlengkapan (Transkoper) di kepanitiaan Fresh 2016, anggota Divisi Publikasi Dekorasi dan Dokumentasi (PDD) di kepanitiaan *Plant Protection Olympiad* (PPO) 2017, Koordinator Divisi PDD di kepanitiaan Pendidikan Dasar dan Orientasi Terpadu Keprofesian (Proteksi) 2017, Sekretaris Pelaksana di kepanitiaan *Anniversary Of Himapta Djaya* (Arthropoda), dan Panitia Pengarah Proteksi 2018. Penulis pada tahun 2017 menjadi asisten praktikum Manajemen Hama Penyakit Terpadu (MHPT), dan pada tahun 2018 menjadi asisten praktikum Ilmu Penyakit Tumbuhan (IPT) dan Mikologi Tumbuhan.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	6
SUMMARY	7
KATA PENGANTAR	8
RIWAYAT HIDUP	9
DAFTAR ISI	10
DAFTAR TABEL	11
DAFTAR GAMBAR	12
I. PENDAHULUAN	Error! Bookmark not defined.
1.1 Latar Belakang	Error! Bookmark not defined.
1.2 Tujuan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
1.3 Hipotesis	Error! Bookmark not defined.
1.4 Manfaat Penelitian	Error! Bookmark not defined.
II. TINJAUAN PUSTAKA	Error! Bookmark not defined.
2.1 Pestisida dan Residu Pestisida	Error! Bookmark not defined.
2.2 Bahan Aktif Metil Tiofanat	Error! Bookmark not defined.
2.3 Bioremediasi	Error! Bookmark not defined.
2.4 Khamir	Error! Bookmark not defined.
III. METODOLOGI	Error! Bookmark not defined.
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	Error! Bookmark not defined.
3.2 Alat dan Bahan	Error! Bookmark not defined.
3.3 Metode Penelitian	Error! Bookmark not defined.
3.4 Analisis Data	Error! Bookmark not defined.
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	Error! Bookmark not defined.
4.1 Isolasi dan Identifikasi Khamir	Error! Bookmark not defined.
4.2 Uji Adaptasi Khamir Terhadap Metil Tiofanat	Error! Bookmark not defined.
4.3 Uji Degradasi Metil Tiofanat oleh Khamir secara <i>In Vitro</i>	Error! Bookmark not defined.
V. KESIMPULAN DAN SARAN	Error! Bookmark not defined.
5.1 Kesimpulan	Error! Bookmark not defined.
5.2 Saran	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR PUSTAKA	Error! Bookmark not defined.
LAMPIRAN	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Rerata koloni khamir pada berbagai konsentrasi fungisida metil tiofanat .	Error! Bookmark not defined.
2.	Rerata diameter <i>Alternaria porri</i> pada uji degradasi fungisida metil tiofanat	Error! Bookmark not defined.

Lampiran

1.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Saccharomyces</i> sp. (1)....	Error! Bookmark not defined.
2.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Candida</i> sp. (1).....	Error! Bookmark not defined.
3.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Schizosaccharomyces</i> sp. .	Error! Bookmark not defined.
4.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Pichia</i> sp. (1)	Error! Bookmark not defined.
5.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Pichia</i> sp. (2)	Error! Bookmark not defined.
6.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Pichia</i> sp. (3)	Error! Bookmark not defined.
7.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Saccharomyces</i> sp. (2)....	Error! Bookmark not defined.
8.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Candida</i> sp. (2).....	Error! Bookmark not defined.
9.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Debaryomyces</i> sp.....	Error! Bookmark not defined.
10.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Issatchenkia</i> sp.....	Error! Bookmark not defined.
11.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Candida</i> sp. (3).....	Error! Bookmark not defined.
12.	Analisis ragam uji adaptasi khamir <i>Candida</i> sp. (4).....	Error! Bookmark not defined.

13. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Pichia* sp. (4) **Error! Bookmark not defined.**
14. Analisis ragam uji degradasi hari 1 **Error! Bookmark not defined.**
15. Analisis ragam uji degradasi hari 2 **Error! Bookmark not defined.**
16. Analisis ragam uji degradasi hari 3 **Error! Bookmark not defined.**
17. Analisis ragam uji degradasi hari 4 **Error! Bookmark not defined.**
18. Analisis ragam uji degradasi hari 5 **Error! Bookmark not defined.**
19. Analisis ragam uji degradasi hari 6 **Error! Bookmark not defined.**
20. Analisis ragam uji degradasi hari 7 **Error! Bookmark not defined.**



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Struktur Kimia Metil Tiofanat.....	Error! Bookmark not defined.
2.	Sel ragi yang membentuk tunas.....	Error! Bookmark not defined.
3.	Modifikasi uji biakan ganda pada uji degradasi fungisida	Error! Bookmark not defined.
4.	<i>Saccharomyces</i> sp. 1.....	Error! Bookmark not defined.
5.	<i>Candida</i> sp. 1	Error! Bookmark not defined.
6.	<i>Schizosaccharomyces</i> sp.	Error! Bookmark not defined.
7.	<i>Pichia</i> sp. 1	Error! Bookmark not defined.
8.	<i>Pichia</i> sp. 2	Error! Bookmark not defined.
9.	<i>Pichia</i> sp. 3	Error! Bookmark not defined.
10.	<i>Saccharomyces</i> sp. 2.....	Error! Bookmark not defined.
11.	<i>Candida</i> sp. 2.....	Error! Bookmark not defined.
12.	<i>Debaryomyces</i> sp.	Error! Bookmark not defined.
13.	<i>Issatchenkia</i> sp.....	Error! Bookmark not defined.
14.	<i>Candida</i> sp. 3.....	Error! Bookmark not defined.
15.	<i>Candida</i> sp. 4.....	Error! Bookmark not defined.
16.	<i>Pichia</i> sp. 4	Error! Bookmark not defined.
17.	Rerata diameter pertumbuhan jamur patogen <i>Alternaria porri</i> pada uji degradasi fungisida metil tiofanat.....	Error! Bookmark not defined.

Lampiran

1.	Koloni <i>Saccharomyces</i> sp. (1)	Error! Bookmark not defined.
2.	Koloni <i>Candida</i> sp. (1)	Error! Bookmark not defined.
3.	Koloni <i>Schizosaccharomyces</i> sp.....	Error! Bookmark not defined.
4.	Koloni <i>Pichia</i> sp. (1).....	Error! Bookmark not defined.
5.	Koloni <i>Pichia</i> sp. (2).....	Error! Bookmark not defined.
6.	Koloni <i>Pichia</i> sp. (3).....	Error! Bookmark not defined.
7.	Koloni <i>Saccharomyces</i> sp. (2)	Error! Bookmark not defined.
8.	Koloni <i>Candida</i> sp. (2)	Error! Bookmark not defined.
9.	Koloni <i>Debaryomyces</i> sp.	Error! Bookmark not defined.
10.	Koloni <i>Issatchenkia</i> sp.	Error! Bookmark not defined.
11.	Koloni <i>Candida</i> sp. (3)	Error! Bookmark not defined.

12. Koloni *Candida* sp. (4) **Error! Bookmark not defined.**
13. Koloni *Pichia* sp. (4) **Error! Bookmark not defined.**
14. Rerata panjang diameter koloni *Aspergillus* *porri* pada uji degradasi fungsida metil tiofanat. Kontrol (+), Kontrol (-), *Saccharomyces* sp. (1), *Candida* sp. (1), *Schizosaccharomyces* sp., *Pichia* sp. (1)... **Error! Bookmark not defined.**
15. Rerata panjang diameter koloni *Alternaria porri* pada uji degradasi fungsida metil tiofanat. *Pichia* sp. (2), *Pichia* sp. (3), *Saccharomyces* sp. (2), *Candida* sp. (2), *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp... **Error! Bookmark not defined.**
16. Rerata panjang diameter koloni *Alternaria porri* pada uji degradasi fungsida metil tiofanat. *Candida* sp. (3), *Candida* sp. (4), *Pichia* sp. (4)..... **Error! Bookmark not defined.**



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sebagian besar mikroba seperti jamur, bakteri, khamir dapat diisolasi dari lingkungan yang tercemar logam berat atau radioaktif. Khamir memiliki beberapa enzim penting seperti selulase, fosfatase, lipase, dan proteinase yang menyebabkan khamir memegang peran yang penting dalam dekomposisi senyawa organik dan dapat digunakan untuk keperluan industri (Spencer dan Spencer, 1997). Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan berbagai jenis khamir di tanah pada daerah tropis seperti *Candida*, *Saccharomyces*, *Pichia*, *Trichosporon*, dan *Filobasidium* memiliki peran sebagai pelarut fosfat dan pendegradasi bahan organik (Ashliha dan Alami, 2014). Khamir yang merupakan jamur uniseluler juga memiliki potensi sebagai agens pendegradasi mampu membersihkan pencemar dalam konsentrasi rendah dan mengurangi penggunaan bahan kimia sebagai koagulan (Yazid, 2017).

Mekanisme antagonis khamir menghasilkan senyawa penghambat pertumbuhan mikroorganisme lain ataupun bahan organik (Madigan *et al.*, 2012). Mekanisme reproduksi aseksual khamir dengan *multilateral budding* dan membentuk askospora serta mampu melakukan fermentasi glukosa. Kemampuan khamir tersebut dapat digunakan untuk mendegradasi dan mengurangi tingkat toksisitas fungisida di tanah. Potensi khamir dengan cara inokulasi dapat menghilangkan 83% total *petrium hydrocarbons* (TPH) selama 180 hari (Fan, 2013).

Khamir memiliki manfaat penting dalam perkembangan bioteknologi. Isolasi dan identifikasi dari total perkiraan keanekaragaman khamir di dunia baru dilakukan sekitar 1%. Diantara 89 generasi khamir yang pernah terdaftar dalam monograf khamir, sebanyak 37 negara atau 42% ditemukan di Indonesia (Kurtzman *et al.*, 2006). Hal ini mengindikasikan eksplorasi khamir masih sangat jarang dilakukan, sedangkan Indonesia merupakan salah satu negara yang sangat kaya keanekaragaman khamirnya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengeksplorasi khamir di tanah yang memiliki potensi dalam mendegradasi fungisida metil tiofanat sehingga tidak mencemari lingkungan.

1.2 Tujuan Penelitian

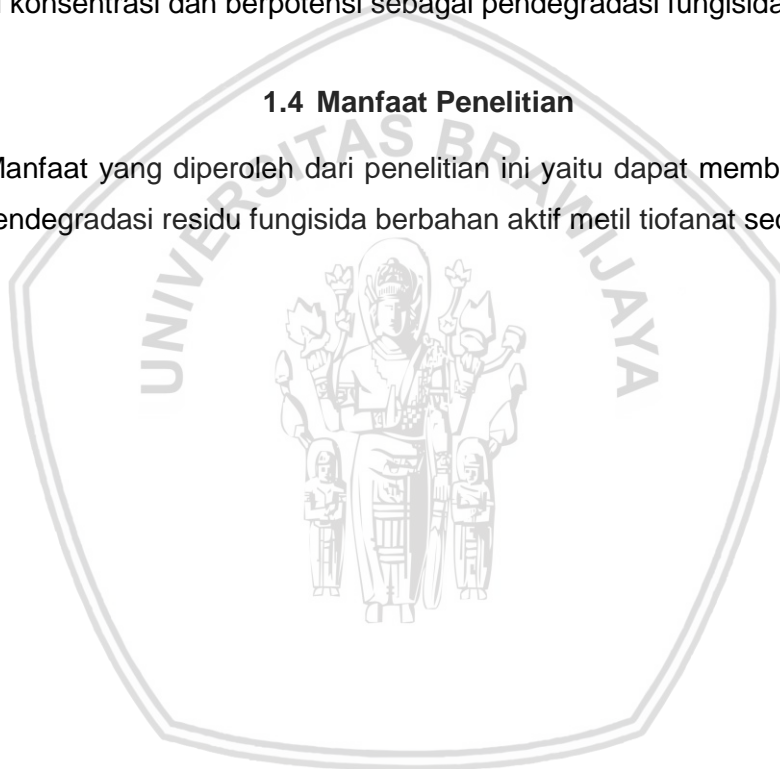
Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji khamir yang ditemukan pada lahan yang tercemar fungisida metil tiofanat, mengkaji kemampuan adaptasi di berbagai konsentrasi dan mengkaji potensi sebagai pendegradasi fungisida tersebut.

1.3 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu ditemukan beberapa khamir pada lahan diduga tercemar fungisida berbahan aktif metil tiofanat yang dapat beradaptasi di berbagai konsentrasi dan berpotensi sebagai pendegradasi fungisida tersebut.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini yaitu dapat memberikan solusi untuk mendegradasi residu fungisida berbahan aktif metil tiofanat secara biologi.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pestisida dan Residu Pestisida

Pestisida adalah bahan kimia beracun, pemakaian pestisida yang berlebihan dapat menjadi sumber pencemar bagi bahan pangan, air, dan lingkungan hidup (Atmawidjaja *et al.*, 2004). Pestisida berasal dari kata *pest* = hama dan *cida* = pembunuh, jadi artinya pembunuh hama. Pestisida adalah semua zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang dipergunakan untuk (a) memberantas atau mencegah hama dan penyakit yang merusak tanaman atau hasil pertanian; (b) memberantas rerumputan; (c) mematikan daun dan mencegah pertumbuhan yang tidak diinginkan; (d) mengatur atau merangsang pertumbuhan tanaman atau bagian tanaman, tidak termasuk pupuk (Adriyani, 2006). Pestisida adalah bahan kimia yang digunakan untuk mengendalikan perkembangan/pertumbuhan dari hama, penyakit dan gulma. Tanpa menggunakan pestisida akan terjadi penurunan hasil pertanian.

Pestisida secara umum digolongkan kepada jenis organisme yang akan dikendalikan populasinya. Insektisida, herbisida, fungisida dan nematosida digunakan untuk mengendalikan hama, gulma, jamur tanaman yang patogen dan nematoda. Jenis pestisida yang lain digunakan untuk mengendalikan hama dari tikus dan siput (Alexander, 1977).

Pestisida setelah diaplikasikan bila bisa bertahan pada bidang sasaran atau pada lingkungan dalam jangka waktu yang relatif lama maka dikatakan persisten. Berdasarkan persistennya, pestisida dapat dikelompokkan ke dalam dua golongan, yaitu yang persisten dan yang kurang persisten. Pestisida yang sangat persisten dapat meninggalkan residu sangat lama dan dapat terakumulasi dalam jaringan melalui rantai makanan sebagai contoh adalah organoklorin, seperti dichloro diphenyl trichlorethane (DDT), siklodien, heksaklorosikloheksan (HCH) dan endrin. Pestisida yang tergolong kurang persisten efektif terhadap berbagai jenis OPT sasaran tetapi di dalam tanah cepat terdegradasi antara lain adalah kelompok organofosfat, misalnya disulfoton, parathion, diazinon, azodrin, dan 2-gophacide (Sudarmo, 2007).

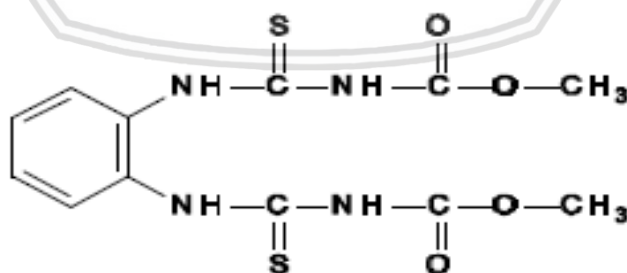
Residu fungisida adalah zat tertentu yang terkandung dalam hasil pertanian, bahan pangan, atau pakan hewan, baik sebagai akibat langsung maupun tidak langsung dari penggunaan fungisida. Istilah ini mencakup senyawa turunan pestisida, seperti senyawa hasil konversi, metabolit, senyawa hasil

reaksi dan zat pengotor yang dapat memberikan pengaruh toksikologis (DEPTAN, 2006). Menurut Puspitasari dan Khaeruddin (2016), gangguan pestisida akibat adanya residu pada tanah yaitu pada tingkat kejenuhan karena tingginya kandungan pestisida per satuan volume tanah. Sifat pestisida yang persisten sehingga mengalami pengendapan yang lama pada tanah menyebabkan terjadinya degradasi tanah. Untuk mengurangi dampak negatif residu fungisida, selain dengan aplikasi 6 tepat agar penggunaan yang efektif, pestisida yang dipilih hendaknya mempunyai DT_{50} (mudah terdegradasi di alam). Namun, informasi tentang DT_{50} tidak mudah diperoleh karena tidak tercantum dalam label fungisida (Kamali, 2008).

2.2 Bahan Aktif Metil Tiofanat

Metil Tiofanat pertama kali ditemukan pada tahun 1973, dan penemuan lain pada tahun 1994 dan 1995. Pada tahun 1994 penemuan baru tentang residu pada buah dan sayuran yang berasal dari penggunaan pasca panen, serta data residu pada selada, paprika, tomat dan bit (FAO, 2018).

Spesifikasi metil tiofanat menurut FAO (2018) berbentuk bubuk putih, tidak berbau, tekanan uap $<1.3 \times 10^{-2}$ mPa pada 25°C , titik lebur pada suhu 165°C , kelarutan air 24,6 mg/l pada 25°C dan 40 mg/l pada 25°C , hidrolisis waktu paruh pada 25°C 867 hari (pH 5), 36 hari (pH 7), 0,7 hari (pH 9), stabil selama 14 hari pada suhu 54°C ; selama 3 tahun pada suhu kamar. Memiliki nama umum ISO metil tiofanat dengan nama kimia dimetil 4,4'-(*o*-fenil) bis (3-tioallofanat) (IUPAC) dimetil [1,2-fenilen bis (iminokarbonotiol)] [karbamat] (CAS), formula molekul $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2$ dengan berat molekul 342.4 (Gambar 1).



Gambar 1. Struktur Kimia Metil Tiofanat (FAO, 1998)

Tanaman kacang, apel dan anggur diolah dengan daunnya sekali dengan metil tiofanat. Setelah 14 hari sebagian besar radioaktivitas yang tertinggal di daun pada tanaman kacang sebanyak 64-72%. Senyawa yang teridentifikasi adalah metil tiofanat, carbendazim dan FH-432 (FAO, 2018).

Beberapa fungisida sistemik yang berbahan aktif benomil dan metil tiofanat, telah diteliti dalam uji efikasi dan memberikan efektivitas yang cukup untuk menekan intensitas penyakit (Sumardiyono *et al.*, 1995). Sedangkan menurut Dekker (1997) fungisida sistemik mempunyai *mode of action* yang spesifik. Telah sejak lama dilaporkan bahwa benomil dan metil tiofanat yang merupakan satu kelompok benzimidazol, menduduki peringkat tertinggi bagi timbulnya strain tahan.

Metil tiofanat diaplikasikan pada tanah berpasir di Jepang yang disterilisasi dan terpapar pada sinar matahari pada bulan Desember selama 28 hari. Waktu paruh awal adalah dihitung setelah 3,9 hari pada kontrol gelap. Hasil foto produksi utama adalah carbendazim yang terpapar setelah 19 hari mencapai 21%. Pola dan tingkat degradasi serupa diamati baik di sinar matahari dan kegelapan (Soeda dan Shiotani, 1987). Larutan metil tiofanat 70WP (0-5000 mg/l) yang ditambahkan ke dalam tanah bertekstur lempung berpasir atau siliat tanah dan disimpan pada suhu 30°C selama 30 hari. Jumlah bakteri dan aktinomisetes tidak terpengaruh. Bila larutan 70 WP (0-5000 mg/l) diinkubasi dengan tanah liat pada suhu 30°C selama 11 hari percepatan respirasi sebanding dengan dosisnya. Bila lima strain azotobacter diinkubasi pada 30°C selama 7 hari dalam medium yang mengandung metil tiofanat (0-500 mg/l) pertumbuhannya tidak terpengaruh (FAO, 2018). Pada tanaman bawang, ada dua percobaan di Jepang dengan 10 aplikasi pada konsentrasi GAP (0,14 kg ai/hl) memberikan residu <0,02 dan 0,04 mg / kg pada GAP PHI 1 hari. Terdapat juga satu percobaan di Belanda dan 7 di Inggris dengan perawatan biji dan / atau daun residu dari <0,03 sampai 12,3 mg / kg setelah dari hari ke 0 sampai hari ke 268 (FAO, 2018).

2.3 Bioremediasi

Bioremediasi adalah proses penguraian limbah organik/anorganik polutan dari sampah organik dengan menggunakan organisme (bakteri, jamur, tanaman atau enzimnya) dalam mengendalikan pencemaran pada kondisi terkontrol menjadi suatu bahan yang tidak berbahaya atau konsentrasinya di bawah batas yang ditentukan oleh lembaga berwenang dengan tujuan mengontrol atau mereduksi bahan pencemar dari lingkungan (Singh *et al*, 2006).

Faktor – faktor yang mempengaruhi proses bioremediasi adalah mikroba, nutrisi dan lingkungan. Mikroba memiliki kemampuan untuk mendegradasi,

mentransformasi dan menyerap senyawa pencemar. Mikroba yang digunakan dapat berasal dari golongan jamur, bakteri, ataupun mikroalga., nutrisi dan lingkungan. Jenis nutrisi yang dibutuhkan bagi mikroba, diantaranya unsur karbon (C), Nitrogen (N), Posfor (P) dan lain lain. Lingkungan yang berpengaruh antara lain oksigen, suhu, dan pH (Puspitasari dan Khairuddin, 2016).

Teknik yang dapat digunakan dalam bioremediasi yaitu perlakuan stimulasi aktivitas mikroorganisme asli pada lokasi tercemar dengan penambahan nutrient, pengaturan kondisi redoks, optimalisasi pH, inokulasi mikroorganisme di lokasi tercemar, penerapan imobilisasi enzim, dan penggunaan tanaman / phytoremediasi (Puspitasari dan Khairuddin, 2016).

Teknologi bioremediasi ada dua jenis, yaitu *ex-situ* dan *in situ*. *Ex-situ* adalah pengelolaan yang meliputi pemindahan secara fisik bahan-bahan yang terkontaminasi ke suatu lokasi untuk penanganan lebih lanjut. Penggunaan bioreaktor, pengolahan lahan (*landfarming*), pengkomposan dan beberapa bentuk perlakuan fase padat lainnya adalah contoh dari teknologi *ex-situ*, sedangkan teknologi *in situ* adalah perlakuan yang langsung diterapkan pada bahan-bahan kontaminan di lokasi tercemar (Vidali, 2011).

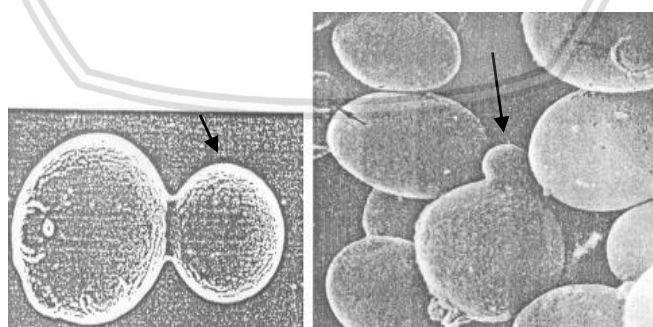
Kesuksesan metode bioremediasi ditentukan oleh penggunaan mikroba yang tepat, di tempat yang tepat dengan faktor-faktor lingkungan yang tepat untuk terjadinya degradasi. Kelebihan bioremediasi adalah dapat dilakukan pada lokasi (perlakuan lapangan) kurangnya biaya dan gangguan. Bioremediasi dapat menghilangkan polutan secara permanen dan dapat diterima masyarakat, dengan didukung peraturan pemerintah yang dapat digabung dengan metode perlakuan fisika dan kimia (Rani dan Dania, 2014). Bioremediasi mempunyai keterbatasan. Residu yang dihasilkan merupakan senyawa yang tidak berbahaya meliputi CO₂, air, dan sel biomassa. Banyak senyawa yang dianggap berbahaya dapat dirubah menjadi tidak berbahaya dan memindahkan kontaminan dari satu medium lingkungan ke tempat lain. Strategi yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kemampuan mendegradasi polutan yaitu menggunakan sel mikroba untuk mengantar gen melalui konjugasi dan menambahkan gen yang sebenarnya ke tanah (Singh dan Walker, 2006).

2.4 Khamir

Khamir merupakan jamur mikroskopis, eukariotik dan uniseluler. Ukuran sel khamir pada umumnya lebih besar dibandingkan dengan sel bakteri. Khamir

memiliki dua mekanisme reproduksi yaitu reproduksi seksual dan aseksual. Semua khamir dapat berkembang biak secara aseksual, tetapi tidak semua khamir dapat melakukan reproduksi seksual. Khamir melakukan reproduksi aseksual dengan cara pertunasan (budding) seperti *Saccharomyces*, pembelahan langsung seperti *Schizosaccharomyces* atau dengan pertumbuhan miselium yang sederhana. Sebagian besar khamir melakukan reproduksi seksual dengan membentuk asci, yang mengandung askospora haploid. Askospora dapat menyatu dengan nukleus dan membelah seiring dengan pembelahan vegetatif, tetapi beberapa khamir memiliki askospora yang menyatu dengan askospora lain (Schneiter, 2004).

Khamir dapat ditemukan pada berbagai tempat di lingkungan terutama substrat yang kaya gula. Khamir telah berhasil diisolasi dari daun, bunga, buah-buahan, biji-bijian, serangga, kotoran hewan dan tanah (Spencer dan Spencer, 1997). Khamir dari kelompok *Saccharomycetales* terdapat pada kulit kayu pohon tertentu dan juga pada buah-buahan serta lingkungan dengan kadar gula yang tinggi seperti nektar dan nira (Sampaio dan Goncalves, 2008). Khamir memiliki manfaat yang penting dalam perkembangan bioteknologi. Isolasi dan identifikasi dari total perkiraan keanekaragaman khamir di dunia baru dilakukan sekitar 1%. Diantara 89 generasi khamir yang pernah terdaftar dalam monograf khamir, sebanyak 37 genera atau 42% ditemukan di Indonesia. Hal ini mengindikasikan eksplorasi khamir masih sangat jarang dilakukan, sedangkan Indonesia merupakan salah satu negara yang sangat kaya keanekaragaman khamirnya (Kurtzman *et al.*, 2006).



Gambar 2. Sel ragi yang membentuk tunas (Brock dan Madigan, 1991)

III. METODOLOGI

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada bulan Januari 2018 sampai dengan Juni 2018.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cetok, baskom, kotak es, tabung reaksi, *Laminar Air Flow* (LAFB), Bunsen, *autoclave*, *microwave*, jarum Ose, botol media, gelas ukur, labu *Erlenmeyer*, mikroskop, *object glass*, *cover glass*, spatula, cawan Petri, korek api, kompor, panci, timbangan analitik, pengaduk, mikropipet, tip, kompor listrik, corong, penggaris, spidol, kulkas, silet, stik L, dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah pada pertanaman apel, isolat patogen *Alternaria porri*, fungisida berbahan aktif metil tiofanat 70%, plastik tanah panas, kapas, aluminium foil, plastik wrap, kertas label, kertas Whatman, agar, dextrose, kentang, tisu, aquades steril, alkohol 70% dan 90%, klorox 2%, spirtus, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), dan media *Yeast Malt Agar* (YMA).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri beberapa tahap yaitu persiapan penelitian, identifikasi khamir, uji adaptasi dan uji degradasi khamir secara *in vitro*. Persiapan penelitian terdiri dari sterilisasi alat, pembuatan media pertumbuhan khamir, pengambilan sampel tanah yang diduga tercemar fungisida berbahan aktif metil tiofanat, isolasi dan identifikasi jamur patogen, pembuatan stok kultur, pembuatan larutan stok fungisida. Identifikasi khamir terdiri dari isolasi dan pemurnian khamir serta identifikasi khamir secara mikroskopis dan makroskopis. Uji adaptasi jamur terhadap fungisida metil tiofanat dan uji degradasi metil tiofanat secara *in vitro*.

Persiapan penelitian. Sterilisasi alat yang digunakan adalah cawan Petri, tabung Erlenmeyer, botol media dan tabung reaksi. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 60 menit. Alat-alat yang akan disterilisasi sebelumnya dimasukkan ke dalam plastik

tahan panas dan diikat. Alat yang tidak tahan panas disterilisasi dengan menggunakan klorox, alkohol dan aquades.

Pembuatan media untuk pertumbuhan khamir yang digunakan yaitu YMA. Bahan yang digunakan untuk pembuatan YMA adalah aquades 1000 ml, ekstrak yeast 3 g, ekstrak malt 3 g, pepton 5 g, glukosa 10 g, agar 20 g, dan *chloramphenicol* 2 kapsul 0,25 g. Semua bahan dimasukkan kedalam aquades, kemudian diaduk hingga mendidih dan homogen. Selanjutnya media yang sudah jadi dituang ke dalam tabung Erlenmeyer, lalu ditutup dengan kapas dan aluminium foil untuk disterilisasi menggunakan autoklaf dengan temperature 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 60 menit. Media yang sudah jadi disterilisasi dituangkan pada cawan Petri. Kemudian cawan Petri ditutup dan dilapisi plastik wrap. Media yang sudah padat siap untuk diinokulasi khamir.

Media PDA terdiri dari kentang 250 g, agar 20 g, dextrose 20 g, *chloramphenicol* 2 kapsul 0,25 g, dan aquades 1000 ml. Kentang yang sudah dikupas dan dicuci bersih lalu dipotong dengan ukuran sekitar 1 cm. Kemudian ditambah 1 liter aquades dan dimasak hingga mendidih, lalu disaring hingga memperoleh sari kentang. Selanjutnya sari kentang ditambah aquades hingga mencapai volume 1 liter dan dimasak hingga mendidih sambil ditambahkan dextrose, agar dan *chloramphenicol*. Media yang sudah homogen dimasukkan kedalam botol media, ditutup dengan aluminium foil dan plastik wrap, lalu disterilkan dengan autoklaf.

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan media PDB adalah kentang 250 g, dextrose 20 g, *chloramphenicol* 2 kapsul 0,25 g dan aquades 1000 ml. Kentang yang sudah dikupas dan dicuci bersih lalu dipotong dengan ukuran sekitar 1 cm. Kemudian ditambahkan 1 liter aquades dan dimasak hingga mendidih, lalu disaring hingga memperoleh sari kentang. Selanjutnya sari kentang ditambah aquades hingga mencapai volume 1 liter dan dimasak hingga mendidih. Dextrose dan *chloramphenicol* ditambahkan setelah sari kentang mendidih. Selanjutnya media dituang ke dalam Erlenmeyer dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 60 menit.

Isolasi jamur patogen yang digunakan sebagai parameter pada uji degradasi. *Alternaria porri* merupakan salah satu jamur sasaran fungisida metil tiofanat. Jamur tersebut diambil dari kebun bawang merah di Daerah Batu tersebut pada daun bawang merah yang menunjukkan gejala penyakit bercak ungu.

Jamur diisolasi dari daun yang bergejala dan dicuci dengan air, lalu dipotong dengan ukuran 1x1 cm. Selanjutnya daun direndam dengan klorox 2%, alkohol 70%, aquades steril sebanyak 2 kali masing-masing selama 1 menit. Lalu ditiriskan pada tisu steril dan ditanam pada media PDA, diinkubasi hingga jamur tumbuh. Selanjutnya dipindahkan ke media PDA baru untuk perbanyakan dan pemeliharaan. Jamur *A. porri* diidentifikasi berdasarkan penampakan makroskopis dan mikroskopis.

Sampel tanah diambil dari lahan apel di Desa Poncokusumo, Malang. Pengambilan sampel tanah pada kedalaman 0-15 cm dari lima titik secara acak lalu dikompositkan. Tanah yang sudah diambil dimasukkan kedalam plastik dan disimpan dalam lemari es agar kondisi mikroba tanah tetap terjaga.

Pembuatan stok kultur khamir sebanyak 1 jarum Ose ditambahkan ke dalam 100 ml media PDB. Lalu diletakkan pada *rotary shaker* selama 3 hari untuk memperbanyak sel-sel khamir. Stok kultur ini digunakan untuk uji adaptasi dan uji degradasi metil tiofanat.

Pembuatan larutan stok fungisida sebanyak 10 g (50 kali konsentrasi anjuran) fungisida ditambahkan ke dalam 100 ml aquades steril. Selanjutnya larutan stok digunakan untuk uji adaptasi dan degradasi metil tiofanat.

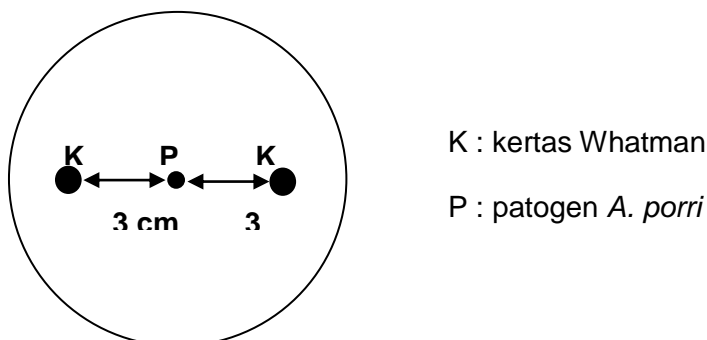
Isolasi, pemurnian dan identifikasi khamir. Isolasi khamir dengan metode *dilution plate* dengan cara menimbang sampel tanah seberat 10 g dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 100 ml aquades dan ditambahkan 0,2 g fungisida berbahan aktif metil tiofanat. Pengenceran bertingkat dilakukan dengan cara mengambil 1 ml suspensi dari Erlenmeyer berisi isolat, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades steril sebanyak 9 ml dan diperoleh seri pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Dari seri pengenceran tersebut diambil sebanyak 0,1 ml suspensi lalu diletakkan pada media YMA dengan metode sebar. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama kurang lebih 3 hari. Selanjutnya dilakukan pengamatan karakter makroskopis koloni yang tumbuh pada media dan dipindah pada media baru hingga diperoleh isolat murni yang seragam.

Identifikasi khamir dilakukan dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis pada koloni jamur tunggal. Identifikasi khamir secara makroskopis dilakukan dengan mengamati penampakan koloni khamir pada media padat meliputi bentuk, warna, tekstur, tepian, permukaan dan elevasi koloni khamir. Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan cara meletakkan koloni tunggal

pada preparat. Koloni diletakkan pada *object glass* dengan sedikit media PDA. Selanjutnya ditutup dengan mikroskop perbesaran 1000x. Pengamatan mikroskopis meliputi bentuk dan ukuran sel, jumlah inti sel, jenis reproduksi seksual dan aseksual, pola pertunasan dan keberadaan pseudohifa.

Uji adaptasi khamir terhadap fungisida metil tiofanat. Isolat khamir yang telah dimurnikan hingga didapatkan koloni tunggal diuji daya adaptasinya terhadap fungisida berbahan aktif metil tiofanat menggunakan media PDA yang telah dicampurkan metil tiofanat. Media terdiri dari larutan stok fungisida dengan volume fungisida 0; 2; 4; 6; 8; 10 ml dan ditambahkan media PDA hingga mencapai volume 100 ml lalu dituangkan ke dalam cawan petri. Sebanyak 1 jarum Ose khamir dari stok kultur digoreskan pada media PDA didalam cawan petri. Rancangan yang digunakan pada uji ini adalah rancangan acak lengkap terdiri dari 6 perlakuan konsentrasi fungisida yang diulang sebanyak 3 kali.

Uji degradasi metil tiofanat oleh khamir secara *in vitro*. *Alternaria porri* yang diketahui merupakan salah satu penyebab penyakit penting pada tanaman bawang merah digunakan dalam uji degradasi. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan 1 ml larutan stok fungisida kedalam 100 ml media PDB. Selanjutnya ditambahkan 1 ml suspensi khamir dari stok kultur khamir dan diinkubasi selama 14 hari. Lalu di autoklaf untuk mematikan sel-sel khamir. Selanjutnya kertas saring Whatman steril dengan ukuran diameter 0,5 cm direndam kedalam larutan fungisida tersebut dan didiamkan selama 1 menit. Kertas ditiriskan dengan tisu steril. Uji degradasi dilakukan dengan memodifikasi metode media biakan ganda dengan cara meletakkan misellium *A. porri* ditengah cawan Petri yang berisi media PDA. Lalu kertas saring Whatman diletakkan pada jarak 3 cm disisi kanan dan kiri dari jamur *A. porri* (Gambar 3). Kemudian diinkubasi selama 7 hari dan diamati diameter *A. porri*. Rancangan yang digunakan pada uji ini adalah rancangan acak lengkap yang diulang sebanyak 3 kali.



Gambar 1. Modifikasi uji biakan ganda pada uji degradasi fungisida

3.4 Analisis Data

Apabila perlakuan pada analisis ragam terdapat perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan menggunakan uji Duncan (DMRT) pada taraf kesalahan 5% karena perlakuan tersebut dikatakan berpengaruh pada uji yang telah dilakukan. Analisis data diolah menggunakan Microsoft Excel 2007 dan aplikasi SPSS.

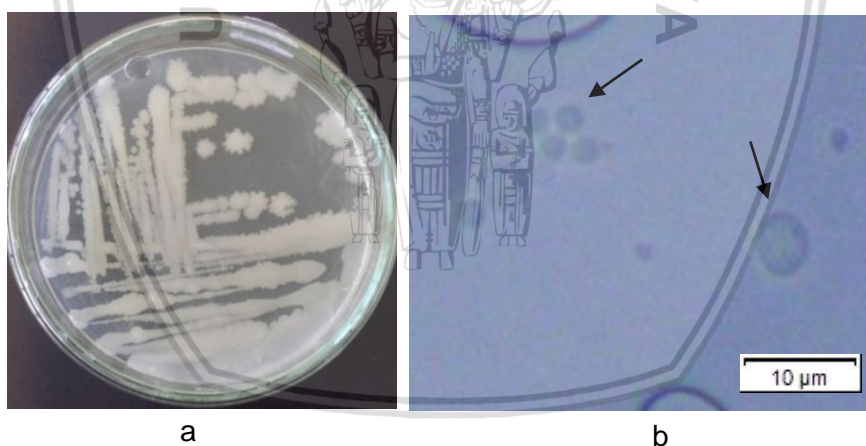


IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi dan Identifikasi Khamir

Hasil yang didapat dari eksplorasi khamir pada tanah yang tercemar fungisida berbahan aktif metil tiofanat terdapat 4 genus yaitu *Saccharomyces* sp. (1), *Candida* sp. (1), *Schizosaccaromyces* sp., *Pichia* sp. (1), serta 9 khamir dari koleksi laboratorium yaitu *Pichia* sp. (2), *Pichia* sp. (3), *Saccharomyces* sp. (2), *Candida* sp. (2), *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. (3), *Candida* sp. (4), dan *Pichia* sp. (4).

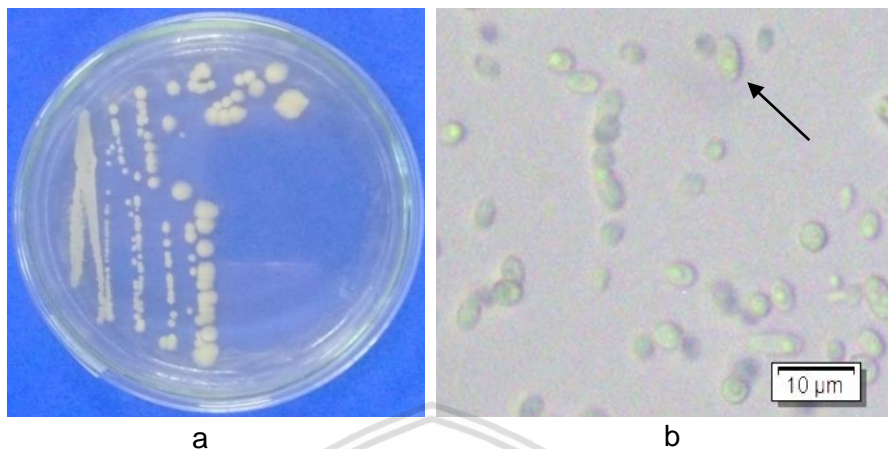
***Saccharomyces* sp. (1)** Koloni khamir berwarna putih kusam, bertekstur tidak butiran, tepi koloni bergelombang, elevasi timbul, dan permukaan agak mengkilap. Sel berbentuk oval, sel tunggal atau berkelompok, berukuran 3-5 μm , tipe pertunasan multilateral dan dapat membentuk pseudohifa (Gambar 4). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Saccharomyces* sp. pada suhu 25°C berwarna krem muda, tekstur butiran, halus, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat, *ovoidal* atau agak oval dengan ukuran 3-8 μm dan dapat membentuk pseudohifa.



Gambar 1. *Saccharomyces* sp. 1 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b. morfologi sel

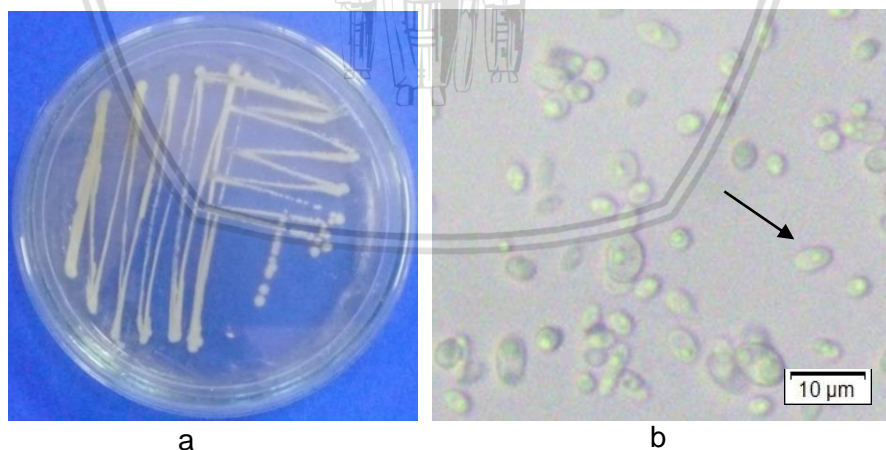
***Candida* sp. (1)** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni bergelombang, elevasi timbul, dan permukaan agak mengkilap. Sel berbentuk oval, sel tunggal atau berkelompok, berukuran 4-6 μm , tipe pertunasan multilateral dan dapat membentuk pseudohifa (Gambar 5). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Candida* sp. pada suhu 25°C berwarna putih hingga putih kusam, tekstur butiran, agak bergerigi, dan

permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat, *ovoidal* atau agak oval, sel tunggal atau berpasangan dengan ukuran 2,5-4,5 μm dan tipe pertunasan multilateral.



Gambar 2. *Candida* sp. 1 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

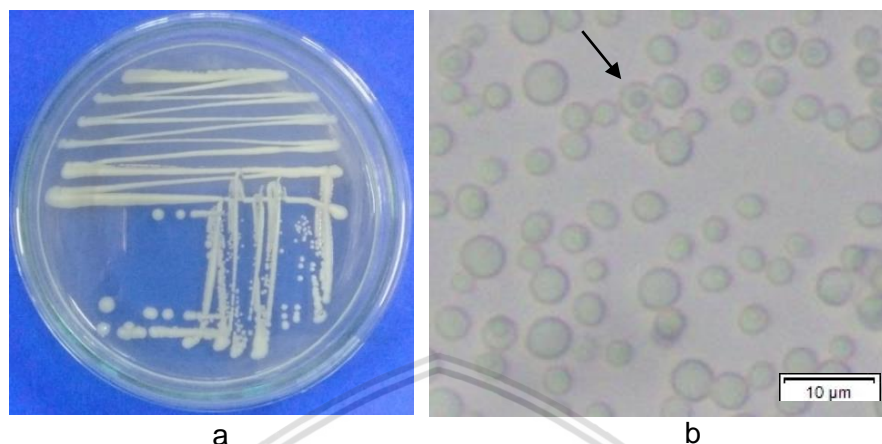
***Schizosaccaromyces* sp.** Koloni khamir berwarna krem kusam, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul, dan permukaan agak mengkilap. Sel berbentuk bulat hingga oval, sel tunggal atau berkelompok, berukuran 2,45-4,65 μm , tipe pertunasan multilateral (Gambar 6). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Schizosaccaromyces* sp. pada suhu 25°C berwarna kecoklatan, krem, tekstur butiran, tepi utuh atau bergerigi, dan permukaan mengkilap. Bentuk sel bulat, oval atau silindris dengan ukuran 3-5 μm dengan sel tunggal atau kelompok kecil.



Gambar 3. *Schizosaccharomyces* sp. pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

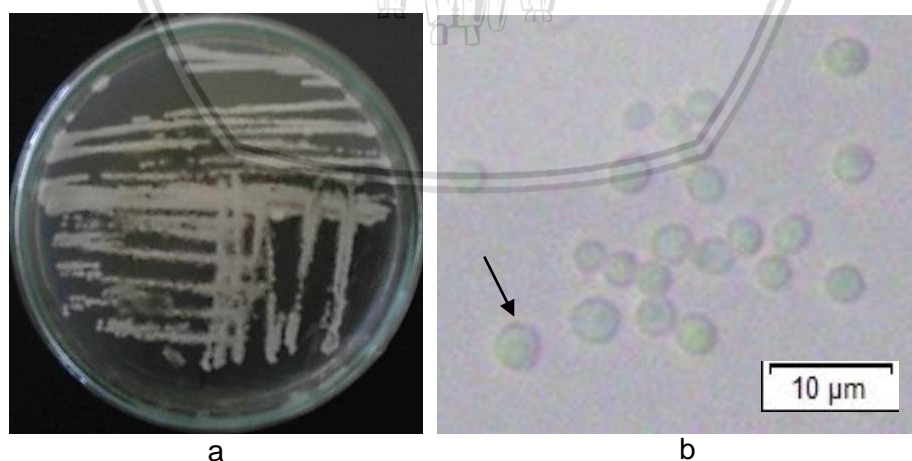
***Pichia* sp. (1)** koloni berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Sel berbentuk bulat, sel tunggal atau berkelompok kecil, dan ukuran sel berkisar 2,58-4 μm (Gambar 7). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan koloni *Pichia* sp. berwarna

putih hingga putih kusam, tekstur butiran, halus, dan mengkilap. Sel berbentuk silindris atau ovoidal, sel tunggal atau berpasangan dan berukuran 2,3-4,8 μm , dan tipe pertunasan multilateral serta dapat membentuk pseudohifa.



Gambar 4. *Pichia* sp. 1 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

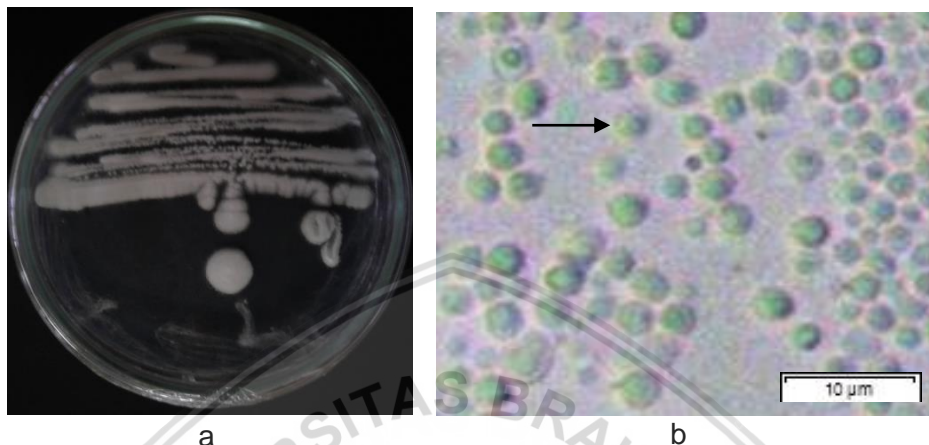
***Pichia* sp. (2)** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, elevasi cembung, memiliki tepian yang rata dan permukaan yang mengkilap. Secara mikroskopis memiliki bentuk sel yang ovoid atau bulat telur dengan ukuran sel yang berkisar 2-3 μm dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 8). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa setelah 3 HSI koloni *Pichia* sp. memiliki bentuk sel yang bulat seperti telur dengan ukuran sel 2-5 μm , tipe pertunasan sel multilateral dan tumbuh secara tunggal ataupun berpasangan, permukaan yang mengkilap dan berwarna krem sampai dengan putih.



Gambar 5. *Pichia* sp. 2 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

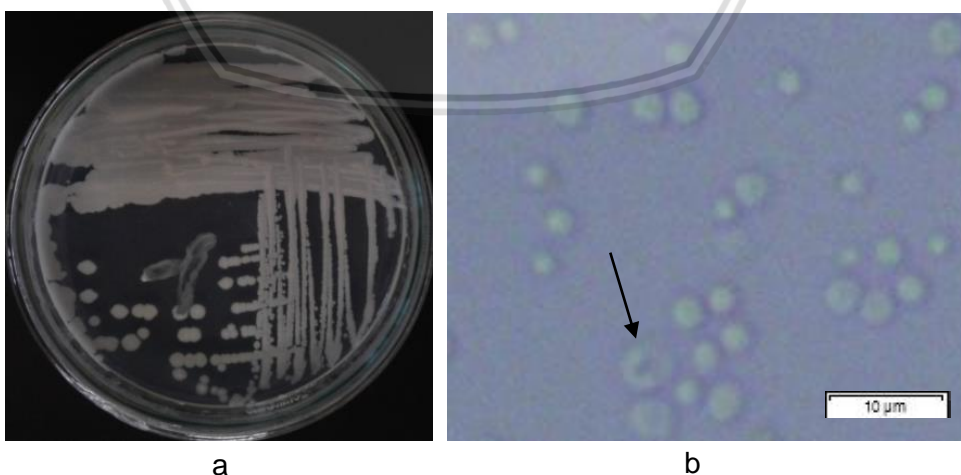
***Pichia* sp. (3).** Koloni khamir berwarna putih, bertekstur butiran, elevasi cembung, memiliki tepian yang rata dan permukaan yang tidak mengkilap. Secara mikroskopis sel memiliki bentuk ovoid atau bulat telur dengan ukuran sel

yang berkisar antara 2-4 μm , memiliki tipe pertunasan multilateral dan dapat membentuk pseudohifa (Gambar 9). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Pichia* sp. berwarna putih hingga putih kusam, memiliki bentuk oval, bulat hingga memanjang dan berukuran 1-5 μm , tipe pertunasan multilateral dan dapat membentuk pseudohifa.



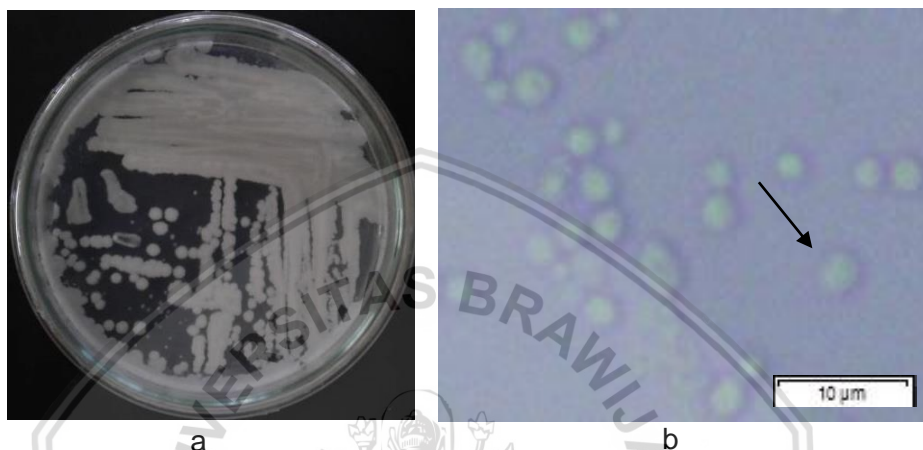
Gambar 6. *Pichia* sp. 3 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

***Saccharomyces* sp. (2)** Koloni kamir berwarna putih krem, memiliki elevasi rata, permukaan yang tidak mengkilap atau sedikit terlihat kasar dan memiliki tekstur yang butiran. Secara mikroskopis sel memiliki bentuk bulat dengan tipe pertunasan multilateral dan memiliki ukuran 2-3 μm (Gambar 10). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Saccharomyces* sp. memiliki warna krem, permukaan yang terlihat halus, sel-sel dengan bentuk bulat atau silindris, tepian koloni yang bergelombang, memiliki ukuran sel berkisar 3-11 μm dengan tipe pertunasan multilateral.



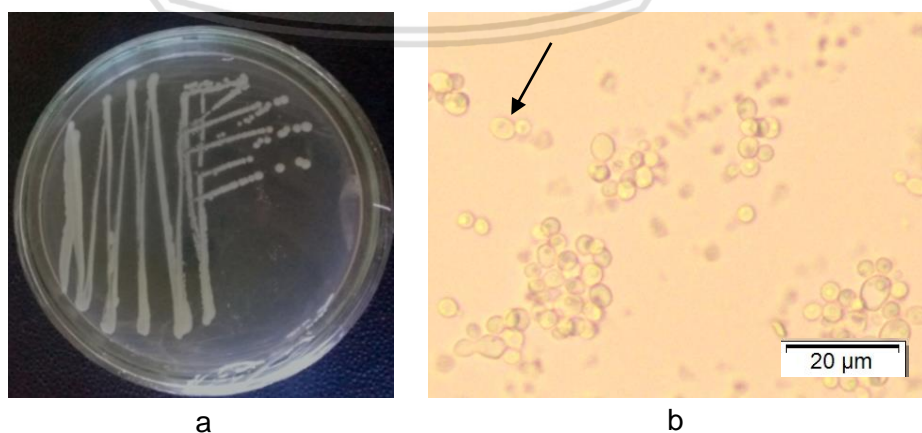
Gambar 7. *Saccharomyces* sp. 2 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

Candida sp. (2) Koloni kamir berwarna putih, memiliki elevasi yang sedikit cembung, memiliki tekstur butiran, tepi koloni rata dan permukaan koloni yang mengkilap. Secara mikroskopis sel berbentuk bulat oval, dengan tipe pertunasan multilateral dan memiliki ukuran 3-4 μm (Gambar 11). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Candida* sp. berwarna putih, permukaan yang mengkilap dengan bentuk sel ovoidal bersel tunggal atau berpasangan dan memiliki ukuran 3-10 μm .



Gambar 8. *Candida* sp. 2 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

Debaryomyces sp. koloni berwarna putih kusam, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul dan permukaan agak mengkilap. Sel berbentuk bulat, sel tunggal atau berkelompok, ukuran sel berkisaran sampai 4,9 μm (Gambar 12). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan koloni *Debaryomyces* sp. berwarna putih hingga putih kusam, tekstur butiran, halus, dan agak mengkilap. Sel berbentuk bulat telur, sel tunggal atau berpasangan dan berukuran 2.1-7 μm , dan tipe pertunasan multilateral.



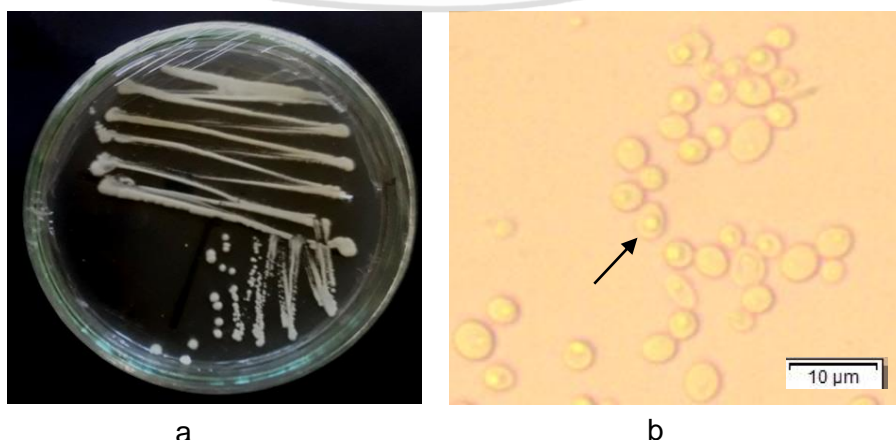
Gambar 9. *Debaryomyces* sp. pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

***Issatchenkia* sp.** koloni berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Sel berbentuk bulat memanjang, sel tunggal atau berkelompok, ukuran sel berkisaran sampai 5,48 μm (Gambar 13). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan koloni *Issatchenkia* sp berwarna putih hingga putih kusam, elevasi timbul, dan memiliki tekstur butiran, halus dan mengkilap. Sel berbentuk bulat atau memanjang, sel tunggal atau berpasangan dan berukuran 2,2-9,3 μm , dan memiliki tipe pertunasan multilateral.



Gambar 10. *Issatchenkia* sp. pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

***Candida* sp. (3)** Koloni berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi rata, dan permukaan agak mengkilap. Sel berbentuk bulat, sel tunggal atau berkelompok, dan ukuran sel berkisaran sampai 3,62 μm (Gambar 14). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan *Candida* sp. 1 berwarna putih, putih kusam, atau krem, tekstur butiran dan bergerigi. sel tunggal atau berpasangan dan berukuran 2,5-4,5 μm , serta memiliki tipe pertunasan multilateral.



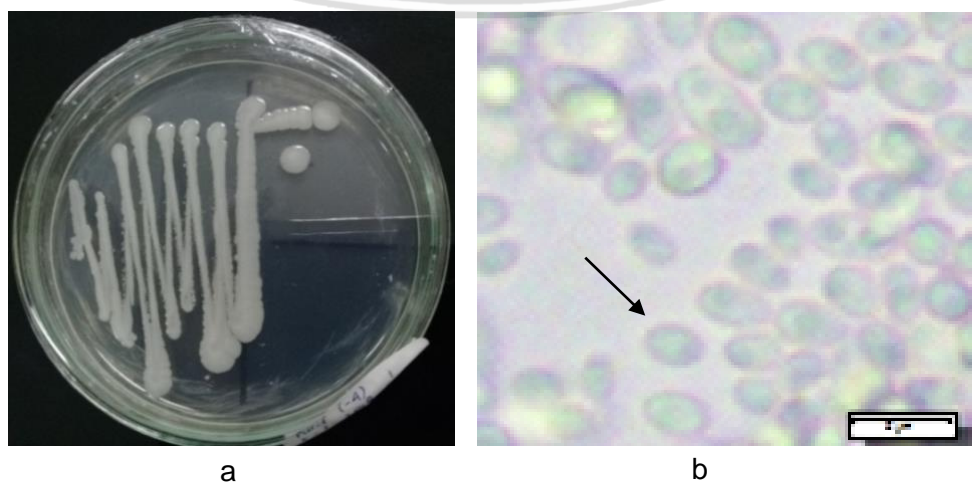
Gambar 11. *Candida* sp. 3 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

***Candida* sp. (4)** koloni berwarna putih, bertekstur butiran, tepi koloni rata, elevasi rata, dan permukaan agak mengkilap. Sel berbentuk lonjong, sel tunggal atau berkelompok, dan ukuran sel berkisaran sampai 4,25 μm (Gambar 15). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan koloni *Candida* sp. 4 berwarna putih atau krem, tekstur butiran, halus, dan mengkilap. Sel berbentuk bulat atau silindris, sel tunggal atau berpasangan dan berukuran 2-9 μm , dan tipe pertunasan multilateral.



Gambar 12. *Candida* sp. 4 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

***Pichia* sp. (4)** koloni berwarna putih, bertekstur tidak butiran, tepi koloni rata, elevasi timbul, dan permukaan mengkilap. Sel berbentuk agak lonjong, sel tunggal atau berkelompok, dan ukuran sel berkisaran sampai 5,56 μm (Gambar 16). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan koloni *Pichia* sp. berwarna putih hingga putih kusam, tekstur butiran, halus, dan mengkilap. Sel berbentuk silindris, sel tunggal atau berpasangan dan berukuran 2-5,8 μm , dan tipe pertunasan multilateral.



Gambar 13. *Pichia* sp. 4 pada 3 HSI. a: koloni pada media PDA; b: morfologi sel

4.2 Uji Adaptasi Khamir Terhadap Metil Tiofanat

Dari hasil penelitian uji adaptasi khamir terhadap beberapa konsentrasi fungisida metil tiofanat ditemukan sebanyak 13 khamir yang dapat tumbuh di berbagai konsentrasi fungisida.

Tabel 1. Rerata koloni khamir pada berbagai konsentrasi fungisida berbahan aktif metil tiofanat

Konsentrasi Fungisida (... kali)	Jenis Khamir												
	<i>Saccharomyces</i> sp. (1)	<i>Candida</i> sp. (1)	<i>Schizosaccaromyces</i> sp.	<i>Pichia</i> sp.(1)	<i>Pichia</i> sp. (2)	<i>Pichia</i> sp. (3)	<i>Saccharomyces</i> sp. (2)	<i>Candida</i> sp. (2)	<i>Debaryomyces</i> sp.	<i>Issatchenkia</i> sp.	<i>Candida</i> sp. (3)	<i>Candida</i> sp. (4)	<i>Pichia</i> sp. (4)
0	9,00a	9,00b	9,00a	9,00a	9,00b	9,00b	9,00a	9,00a	9,00b	9,00a	9,00a	9,00a	9,00a
1	8,81a	9,00b	9,00a	7,04a	8,43ab	9,00b	9,00a	8,20a	7,23ab	8,02a	7,28a	8,06a	6,78a
2	9,00a	9,00b	8,58a	8,06a	8,37ab	9,00b	8,61a	8,80a	7,21ab	8,41a	9,00a	8,69a	9,00a
3	7,76a	9,00b	8,87a	7,56a	6,11a	7,57a	7,74a	8,41a	5,15a	8,09a	9,00a	8,91a	8,80a
4	8,94a	9,00b	8,24a	8,88a	7,91ab	8,45ab	8,06a	8,30a	7,11ab	7,90a	8,27a	8,89a	8,47a
5	8,28a	8,60a	8,46a	7,59a	7,67ab	8,05ab	8,22a	8,12a	6,97ab	7,83a	6,46a	8,70a	7,42a

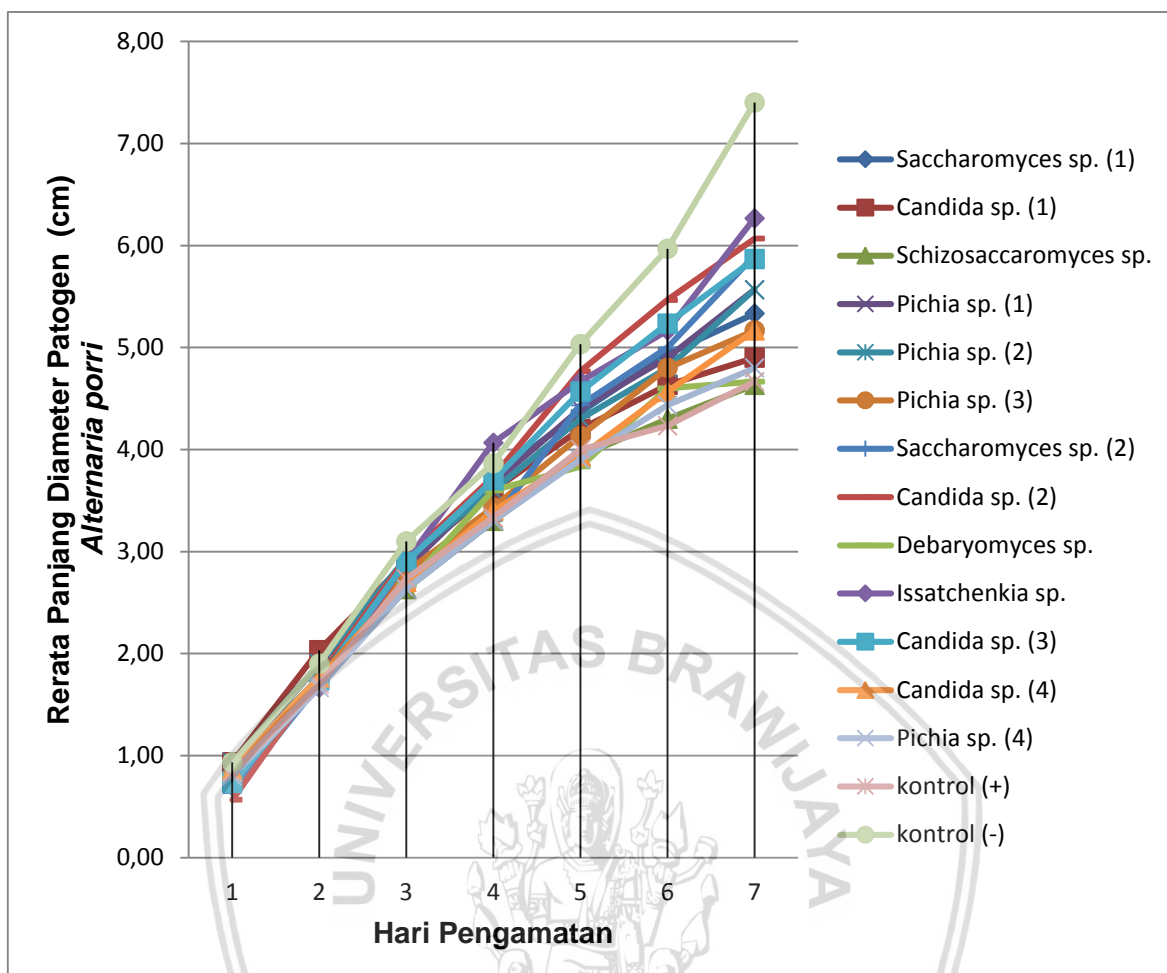
Keterangan: Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf kepercayaan 95%

Kemampuan khamir untuk dapat tumbuh dalam konsentrasi tersebut dapat dilihat berdasarkan rerata diameter pertumbuhan khamir yang telah digoreskan pada media PDA bercampur fungisida dalam cawan Petri dengan total diameter 9 cm. Perbandingan antara kontrol dan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 seluruh khamir masih dapat tumbuh tetapi mulai terhambat pertumbuhannya seiring dengan penambahan konsentrasi. Semakin pendek diameter khamir, maka semakin sedikit pula daya adaptasinya terhadap fungisida yang telah diberikan. Pada konsentrasi tertinggi jenis khamir *Candida* sp. (1), *Schizosaccharomyces* sp., dan *Candida* sp. (4) yang memiliki diameter terpanjang dan mampu beradaptasi dengan baik di berbagai konsentrasinya. Sedangkan pada jenis khamir *Debaryomyces* sp. memiliki diameter terendah mulai dari konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5.

Sel khamir dianggap toleran dan mampu hidup pada kondisi yang tidak menguntungkan dan nutrisi yang kurang sesuai dengan setiap jenis isolat khamir yang digunakan untuk melihat kerentanan khamir terhadap pestisida (Slavikova dan Vadkerticova, 2003). Menurut Fatichenti, F., *et al* (1993) perubahan pertumbuhan khamir dipengaruhi oleh penambahan pestisida pada konsentrasi yang digunakan. Sedangkan menurut Sumardiyono (2008) organisme mempunyai sifat seperti penyesuaian diri untuk mempertahankan dirinya pada keadaan yang buruk termasuk pemberian fungisida sehingga dapat menimbulkan strain tahan terhadap fungisida yang salah satu penyebabnya adalah pemakaian berulang-ulang terhadap konsentrasi dari fungisida sistemik.

4.3 Uji Degradasi Metil Tiofanat oleh Khamir secara *In Vitro*

Pada uji selanjutnya yaitu uji degradasi fungisida berbahan aktif metil tiofanat dengan menggunakan modifikasi metode biakan ganda khamir yang ditumbuhkan pada media PDA. Untuk dapat mengetahui fungisida tersebut dapat terdegradasi oleh khamir dengan melihat diameter pertumbuhan jamur patogen *Alternaria porri* yang di samping kiri kanannya ditanam juga kertas Whatman yang telah diinkubasi selama 14 hari bersamaan dengan fungisida metil tiofanat.



Gambar 14. Rerata diameter pertumbuhan jamur patogen *Alternaria porri* pada uji degradasi fungisida berbahan aktif metil tiofanat

Hasil eksplorasi khamir terdapat 13 jenis yang digunakan dalam uji degradasi untuk melihat kemampuan khamir dalam mengurangi tingkat toksisitas fungisida. Pada perlakuan khamir *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. (2), dan *Saccharomyces* sp. (2) merupakan 3 jenis khamir teratas setelah kontrol negatif yang dapat berpengaruh nyata terhadap rerata panjang diameter *A. porri* (Gambar 17). Dapat dikatakan bahwa khamir tersebut dapat mengurangi tingkat toksisitas fungisida berbahan aktif metil tiofanat karena dapat tumbuh melebihi panjang diameter jamur patogen pada kontrol positif. Menurut Sharma, *et al* (2016) pestisida dapat dikategorikan sensitif atau toleran terhadap dekomposisi sesuai tingkat degradasinya yang dapat terjadi dalam kondisi atmosfer normal atau karena aktifitas mikrobiologi tanah.

Tabel 2. Rerata diameter *Alternaria porri* pada uji degradasi fungisida metil tiofanat

Khamir	Hari Pengamatan						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Saccharomyces</i> sp. (1)	0.77a	1.73ab	2.87ab	3.73ab	4.37abc	4.93a	5.33ab
<i>Candida</i> sp. (1)	0.93a	2.03b	2.90ab	3.60ab	4.20abc	4.63a	4.90ab
<i>Schizosaccharomyces</i> sp.	0.90a	1.77ab	2.63a	3.30a	3.93ab	4.30a	4.63a
<i>Pichia</i> sp. (1)	0.90a	1.90ab	2.83ab	3.67ab	4.40abc	4.90a	5.57ab
<i>Pichia</i> sp. (2)	0.93a	1.90ab	2.93ab	3.60ab	4.30abc	4.80a	5.57ab
<i>Pichia</i> sp. (3)	0.80a	1.73ab	2.80ab	3.43ab	4.13ab	4.80a	5.17ab
<i>Saccharomyces</i> sp. (2)	0.63a	1.70a	2.63a	3.30a	4.43abc	5.00ab	5.90ab
<i>Candida</i> sp. (2)	0.57a	1.77ab	2.93ab	3.73ab	4.77bc	5.47ab	6.07abc
<i>Debaryomyces</i> sp.	0.77a	1.77ab	2.67ab	3.60ab	3.83a	4.60a	4.67a
<i>Issatchenkia</i> sp.	0.80a	1.67a	2.90ab	4.07b	4.67abc	5.17ab	6.27bc
<i>Candida</i> sp. (3)	0.73a	1.73ab	2.90ab	3.70ab	4.57abc	5.23ab	5.87ab
<i>Candida</i> sp. (4)	0.87a	1.77ab	2.70ab	3.40ab	3.93ab	4.57a	5.17ab
<i>Pichia</i> sp. (4)	0.80a	1.67a	2.63a	3.30a	3.90ab	4.43a	4.80ab
Kontrol (+)	0.83a	1.70a	2.73ab	3.33a	4.00ab	4.23a	4.67a
Kontrol (-)	0.93a	1.90ab	3.10b	3.87ab	5.03c	5.97b	7.40c

Keterangan: Angka-angka yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf kepercayaan 95%

Dari hasil uji degradasi menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan dan kontrol sehingga dapat dilihat pada grafik (Gambar 17) bahwa dari 1 hsi hingga 7 hsi rerata diameter *A. porri* tertinggi pada kontrol negatif (media PDA saja) sedangkan diameter terendah pada kontrol positif (media PDA+fungisida) yaitu masing-masing 7,40 cm dan 4,67 cm. Pada pengamatan hari ke-1 hingga ke 2 rerata diameter *A. porri* tertinggi yaitu jenis khamir *Candida* sp. (1) sepanjang 2,03 serta *Pichia* sp. (1) dan *Pichia* sp. (2) sepanjang 1,90 cm. Pada pengamatan hari ke-3 rerata diameter jamur patogen tertinggi pada khamir *Pichia* sp. (2) dan *Candida* sp. (2) yaitu 2,93 cm. Pengamatan hari ke-4 mengalami perubahan rerata diameter khamir yang berbeda nyata terhadap jenis khamir lainnya yaitu *Issatchenkia* sp. yang memiliki panjang 4,07 cm bahkan melebihi rerata diameter kontrol negatif yaitu 3,87 cm sedangkan pada khamir lainnya dibawah 3,8 cm. Selanjutnya pada pengamatan hari ke-5 hampir semua khamir memiliki rerata diameter yang hampir sama tetapi pada khamir *Debaryomyces* sp. sebesar 3,83 cm yang berbeda nyata terhadap khamir lainnya karena pertumbuhannya semakin menurun. Pengamatan hari ke-6 rerata diameter *A. porri* tertinggi hanya pada khamir *Candida* sp. (2) dengan panjang 5,47 cm. Pada pengamatan hari terakhir (7 hsi) khamir *Issatchenkia* sp.

memiliki rerata diameter tertinggi yaitu 6,27 cm dan berbeda nyata terhadap khamir yang lain. Hal ini dapat disimpulkan bahwa semua khamir yang ditemukan mampu mengurangi tingkat toksisitas fungisida dengan mengubah atau mengurai senyawa menjadi sumber nutrisi bagi mikroorganisme lainnya.

Mikroorganisme memiliki kemampuan dalam berkembang biak dan hidup di lingkungan yang mengandung radio aktif dan sebagian besar terdapat pada jamur, bakteri dan khamir yang dapat diisolasi dari lingkungan yang tercemar (Yazid, 2007). Menurut Javanbakht dan Zilouei (2014) mikroorganisme dapat juga menghasilkan asam organik seperti sitrat, asam oksalat, laktat dan asam malat yang dapat mengubah logam beracun dan menyebabkan pembentukan molekul organik metalloïd dapat membantu penguraian senyawa toksik dan melakukan pencucian pada permukaannya. Sedangkan menurut Fan, *et al* (2014) beberapa spesies khamir seperti *Candida tropicalis* dan *Trichosporon asahii* yang ditemukan dapat menghasilkan biosurfaktan yang dapat digunakan dalam bioremediasi minyak karena dapat memperbanyak pertumbuhan substrat mikroorganisme hidrofobik yang dapat meningkatkan penyerapan hara sehingga mengatasi kurangnya ketersediaan polutan hidrokarbon untuk mikroba.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat 4 genus khamir yang ditemukan pada lahan diduga tercemar fungisida metil tiofanat yaitu *Saccharomyces* sp. (1), *Candida* sp. (1), *Schizosaccaromyces* sp., *Pichia* sp. (1), dan 9 khamir dari koleksi laboratorium yaitu *Pichia* sp. (2), *Pichia* sp. (3), *Saccharomyces* sp. (2), *Candida* sp. (2), *Debaryomyces* sp., *Issatchenkia* sp., *Candida* sp. (3), *Candida* sp. (4), dan *Pichia* sp. (4).
2. Uji adaptasi 13 khamir yang ditemukan dapat tumbuh hingga 10 kali konsentrasi anjuran produk fungisida metil tiofanat tetapi khamir *Debaryomyces* sp. memiliki kemampuan paling rendah terhadap daya adaptasinya.
3. Pada uji statistik khamir yang memiliki kemampuan paling baik dalam mendegradasi fungisida berbahan aktif metil tiofanat yaitu khamir *Issatchenkia* sp.

5.2 Saran

Hasil penelitian mengenai eksplorasi dan uji potensi khamir dalam mendegradasi fungisida berbahan aktif metil tiofanat perlu dilakukan identifikasi khamir hingga tingkat spesies dan uji patogenesitasnya terhadap manusia, analisis terhadap fungisida metil tiofanat yang terdapat pada lahan, dan senyawa turunan dari fungisida metil tiofanat yang telah terdegradasi.

DAFTAR PUSTAKA

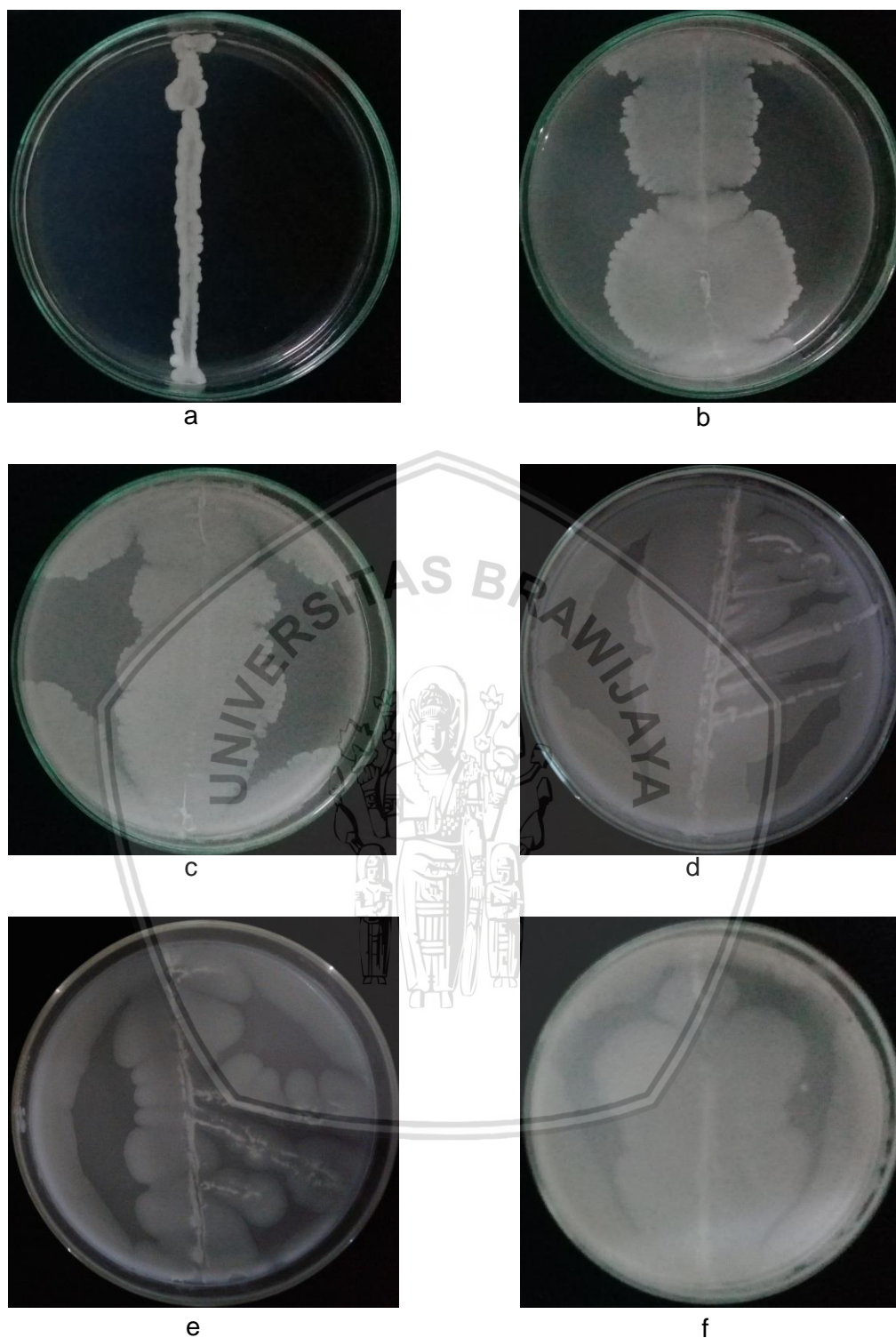
- Adriyani, R. 2006. Usaha pengendalian pencemaran lingkungan Akibat penggunaan pestisida pertanian. Jurnal Kesehatan Lingkungan. 95-106.
- Alexander, M. 1977 . Introduction to soil microbiology. John Wiley and Sons. New York.
- Ashliha, N.I dan N.H.Alami. 2014. Karakterisasi khamir dari pulau poteran Madura. Jurnal Sains dan Seni Pomits. 49-52.
- Atmawidjaja, S., D.H.Tjahjono, Rudiyanto. 2004. Pengaruh perlakuan terhadap kadar residu pestisida meditation pada tomat. Acta Pharmaceutica Indonesia. 72-82.
- Brock, T.D. and M.T.Madigan. 1991. Biology of microorganisms prentice hall. Eaglewood cliffs. New Jersey. USA. 771-775.
- Dekker, J.1977. Systemic fungicides. Longman, London and New York. 336- 344.
- Departemen Pertanian. 2007. Pedoman pertumbuhan dan pengembangan kelompok tani dan gabungan kelompok tani. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta. 3-195.
- Fan, M.Y., J.X.Rui, Q.Gang. 2014. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by a combined system of biostimulation–bioaugmentation with yeast. Environmental Technology. 391-399.
- Fatichenti, F., G.A.Farris, P.Deiana, P.Cabras, M. Meloni, F.M.Pirisi. 1984. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* on concentration of dicarboxymide and acylanilidae fungicides and pyrethroid insecticides during fermentation. Application Microbiol Biotechnology. 419-421.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2018. Thiophanate-methyl. Diunduh http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation98/thiophanate-methyl.pdf. Tanggal 22 Januari 2018.
- Gadd, M. G. 1992. Heavy metal pollutants environmental and biotechnological aspect II, Encyclopedia of Microbiology; Academic Press USA. 351 – 360.
- Guthrie, C. and G.R.Fink. 1991 . Methods in enzymology, guide to yeast genetics and molecular biology. Academy Press. New York. 3-21.
- Javanbakht, V., and H.Zilouei. 2014. Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent. Water Science and Technology. 1775-1787.
- Kamali, S.R. 2008. Distribusi insektisida deltametrin pada tanaman cabai besar (*Capsicum annum* L.). Tesis. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Kurtzman, C.P., T.Boekhout, V.Robert, J.W.Fell, T.Deak. 2006. Yeast systematics and phylogeny-Implications of molecular identification methods for studies in ecology. 1-1075.

- Kurtzman, C.P. and J.W.Fell. 1998. The yeasts, a taxonomy study. 131-906
- Madigan, MT., J.M.Martinko, D.A.Stahl, D.P.Clark. 2012. Biology of Microorganism. San Francisco. Pearson. 140-141
- Munir, E. 2006. Pemanfaatan mikroba dalam bioremediasi: suatu teknologi alternatif untuk pelestarian lingkungan. Medan: USU. 1-34.
- Puspitasari, D., dan Khaeruddin. 2016. Kajian bioremediasi pada tanah tercemar pestisida. Jurnal Kovalen. 2-3.
- Rahmansyah, M dan N.Sulistinah. 2009. Performa bakteri pada tanah tercemar pestisida. Berita Biologi. 1-8.
- Rani, K., and G.Dhanias. 2014. Bioremediation and biodegradation of pesticide from contaminated soil and water. Jurnal Current Microbiology. Applied Sciene. 23-33.
- Sampaio, J.P. and P.Goncalves. 2008. Natural populations of *saccharomyces kudriavzevii* in Portugal are associated with Oak Bark and are Simpatric with *S. cerevisiae* and *S. paradoxus*. Applied Environment Microbiology 214-452.
- Schneiter, Roger. 2004. Genetics, molecular and cell biology of yeast. Yeast Genetics. University Friburgen Swiss. 2-86.
- Sharma, A., K.L.Bruce, B.Chen, S.Gyoneva, S.H.Behrens, A.S.Bommarius, Y.O.Chernoff. 2016.. Contributions of the prion protein sequence, strain, and environment to the species barrier. Journal Biological Chemistry. 1277-1288.
- Singh, B.K. and A.Walker. 2006. Microbial degradation of organophosphorus compounds. FEMS Microbiology. 428–471.
- Slavikova, E. and R.Vadkertikova. 2003. Effects of pesticide on yeast isolated from agricultural soil. Culture Collection of Yeasts. Institute of Chemistry. Slovak Academy of Sciences. 855-859.
- Soeda Y. and H.Shiotani. 1987. Thiophanate-methyl photodegradation on soil. Nippon Soda.
- Sudarmo, S. 2005. Pestisida nabati pembuatan dan pemanfaatannya. Kanisius. Yogyakarta. 1-58.
- Spencer, J.F.T. and D.M.Spencer. 1997. Yeasts in natural and artificial habitats. Berlin: Springer Verlag.
- Suhendrayatna. 2001. Bioremoval Logam Berat dengan Menggunakan Mikroorganisme Suatu Kajian Kepustakaan. <http://www.istecs.org/publication/Japan/010211suhendrayatna>. Diunduh pada Tanggal 20 Desember 2018 (20:35).

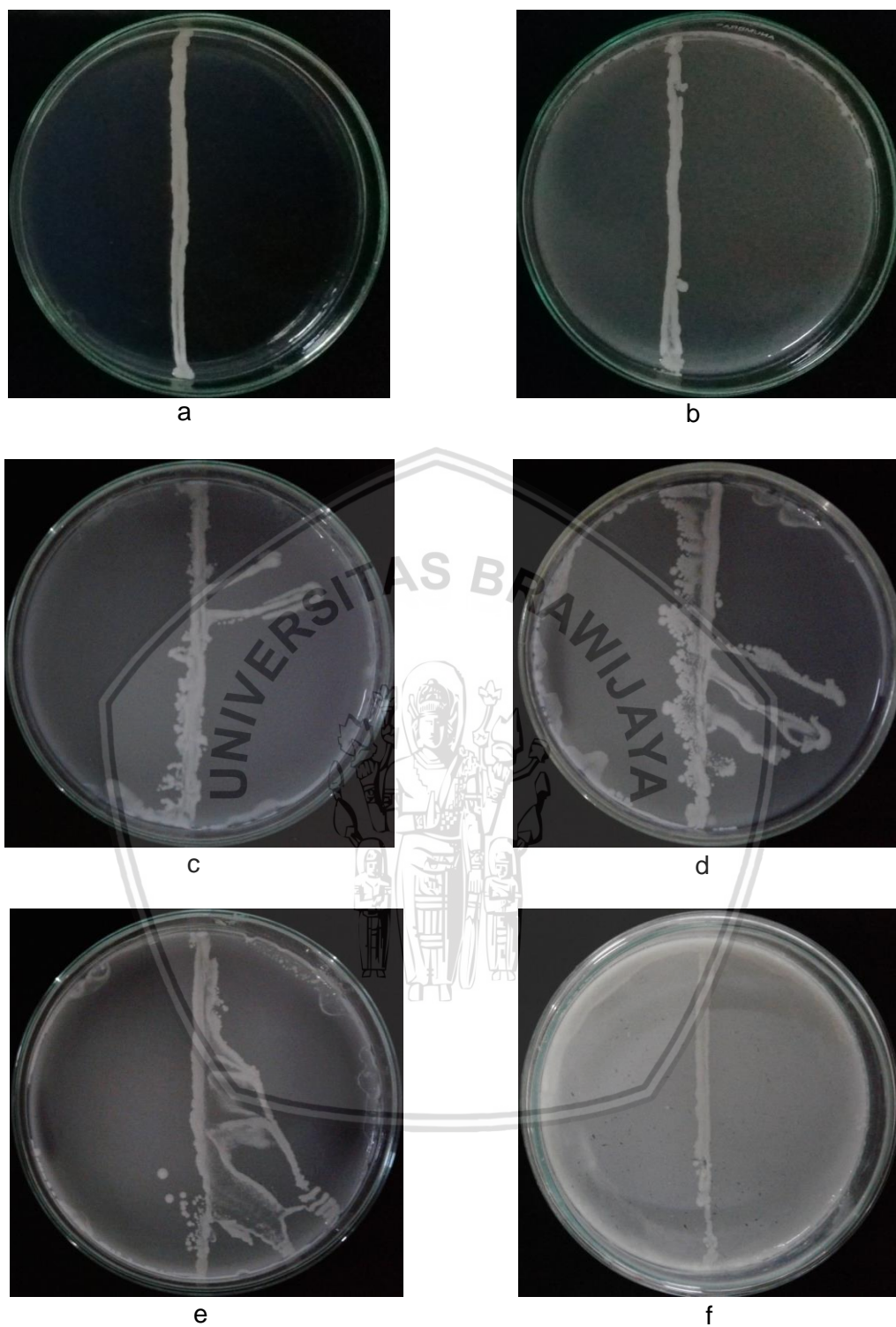
- Sumardiyono, C. 2008. Ketahanan jamur terhadap fungisida di Indonesia. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 1-5.
- Sumardiyono, C., A.Wibowo, dan Suryanti. 1995. Uji efikasi fungisida Topsin-M 70 WP terhadap penyakit diplodia natalensis pada tanaman jeruk. Laporan Penelitian Fakultas Pertanian UGM.
- Tisnadjaja, D., A.Purnama, E.Yudiadi, R.Pujihastuti, C.S.Ibrahim, A.Soeksmanto, D.R.Dermana, Suyamto, S.J.Rijadi, Supriatna T.Sumardiman. 2001. Mikroba Indigen. Laporan Teknik Proyek Penelitian Bioteknologi.
- Vidali, M. 2011. Bioremediation an overview. *Pure Applied Chemical*. 1163–1172.
- Yazid, M. 2007. Kajian pemanfaatan bacteria hasil isolasi sebagai agen bioremediasi radionuklida uranium di lingkungan. Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan BATAN. Yogyakarta. 115-122.



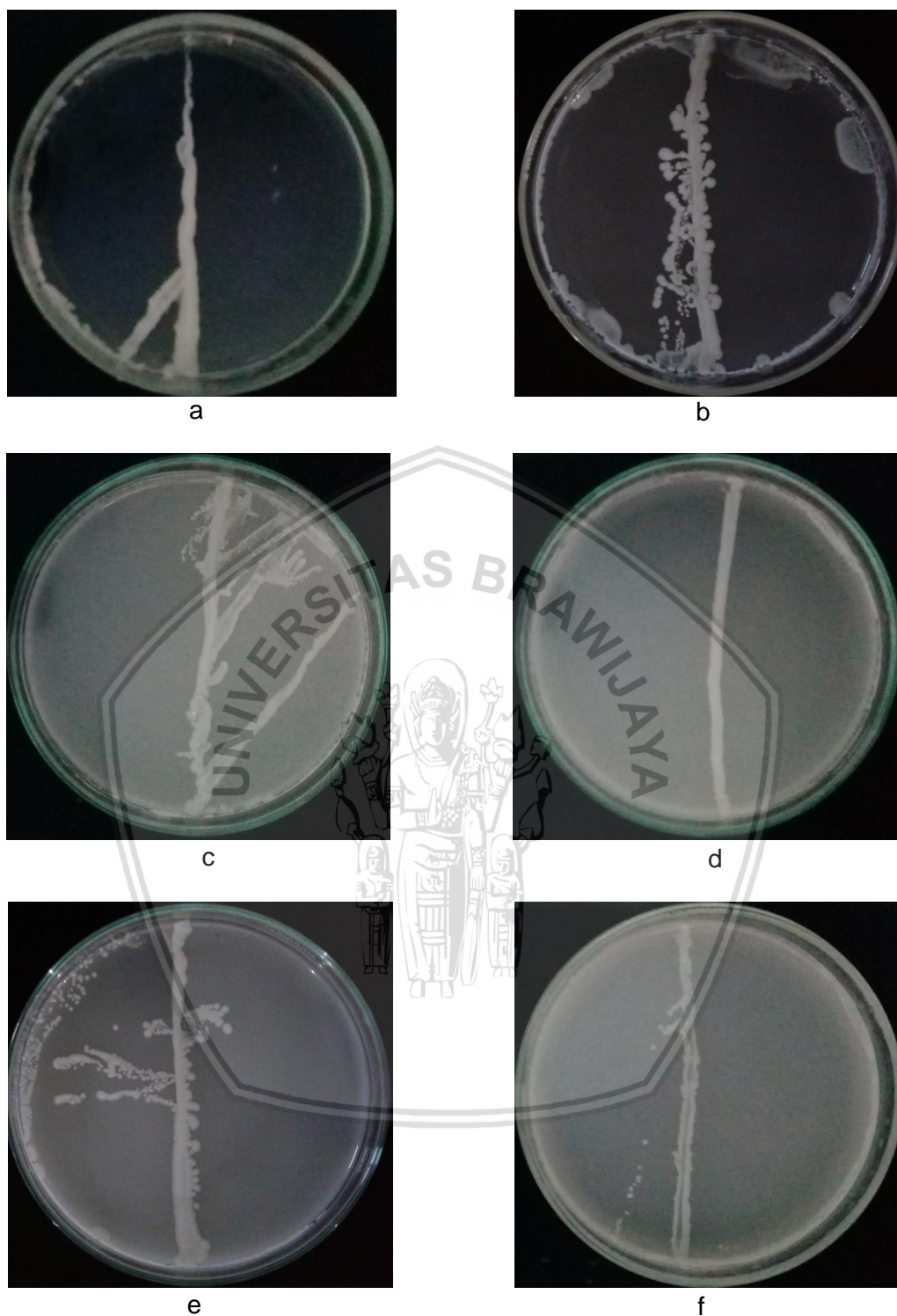




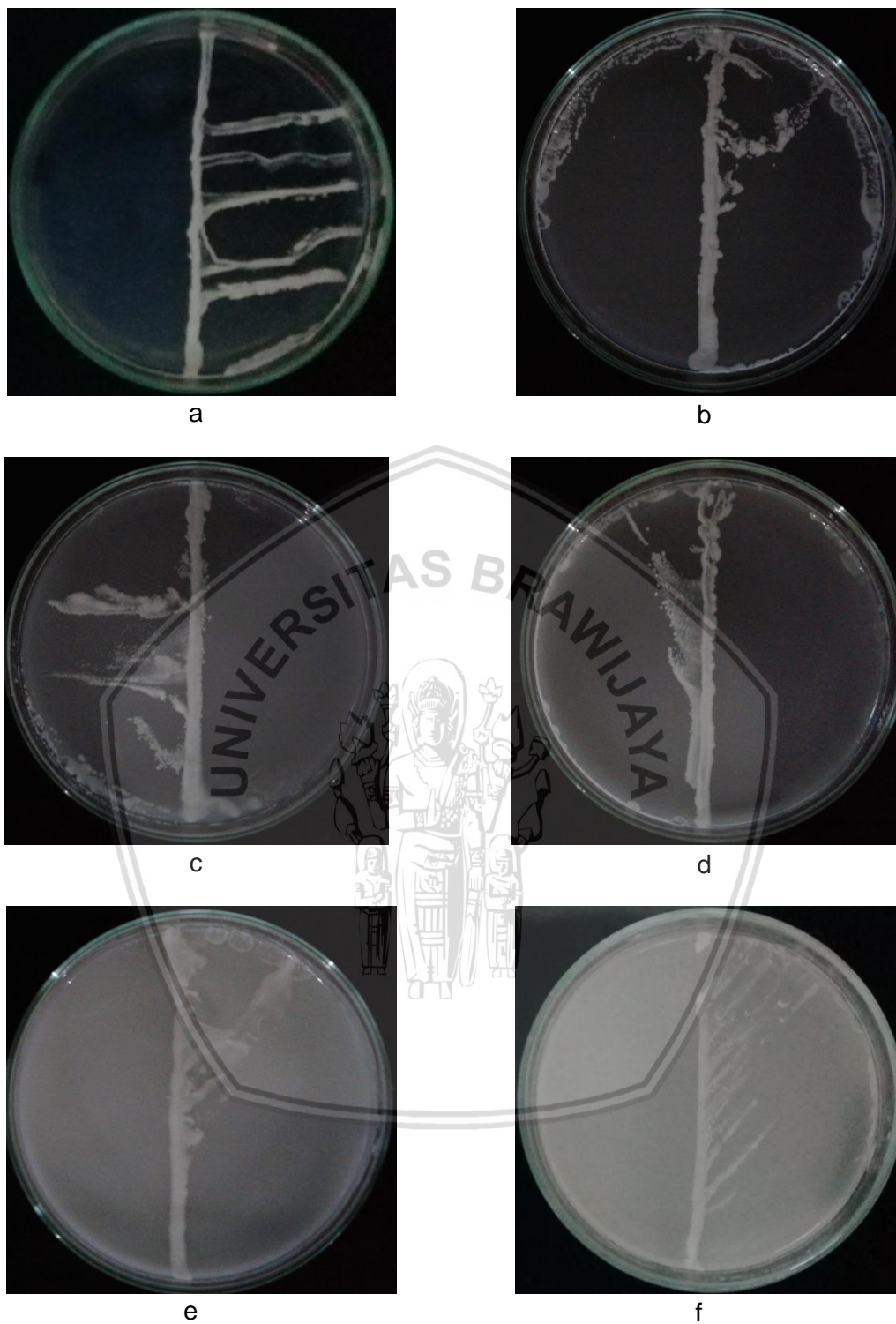
Gambar Lampiran 1. Koloni *Saccharomyces* sp. (1) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



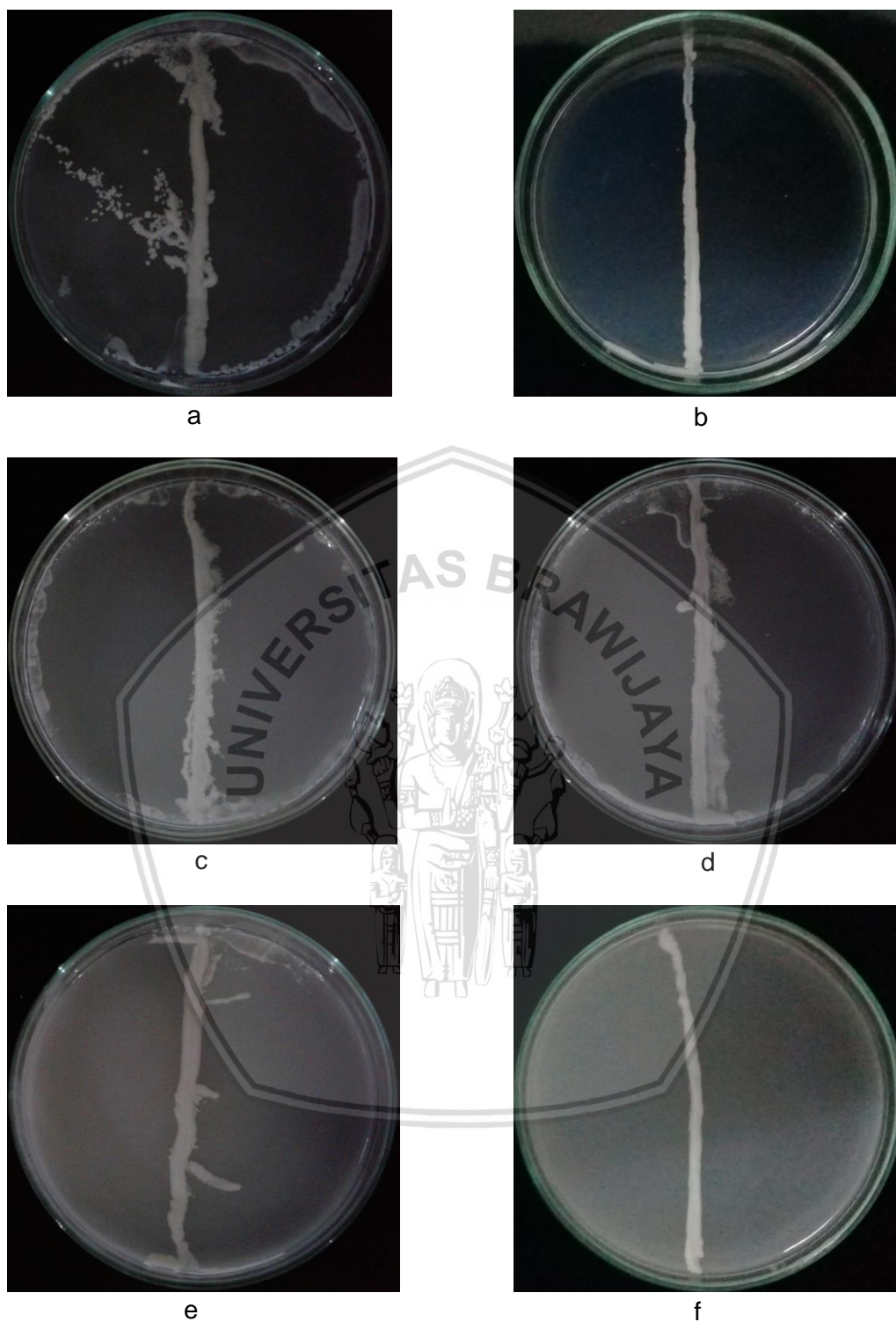
Gambar Lampiran 2. Koloni *Candida* sp. (1) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



Gambar Lampiran 3. Koloni *Schizosaccaromyces* sp. pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



Gambar Lampiran 4. Koloni *Pichia* sp. (1) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



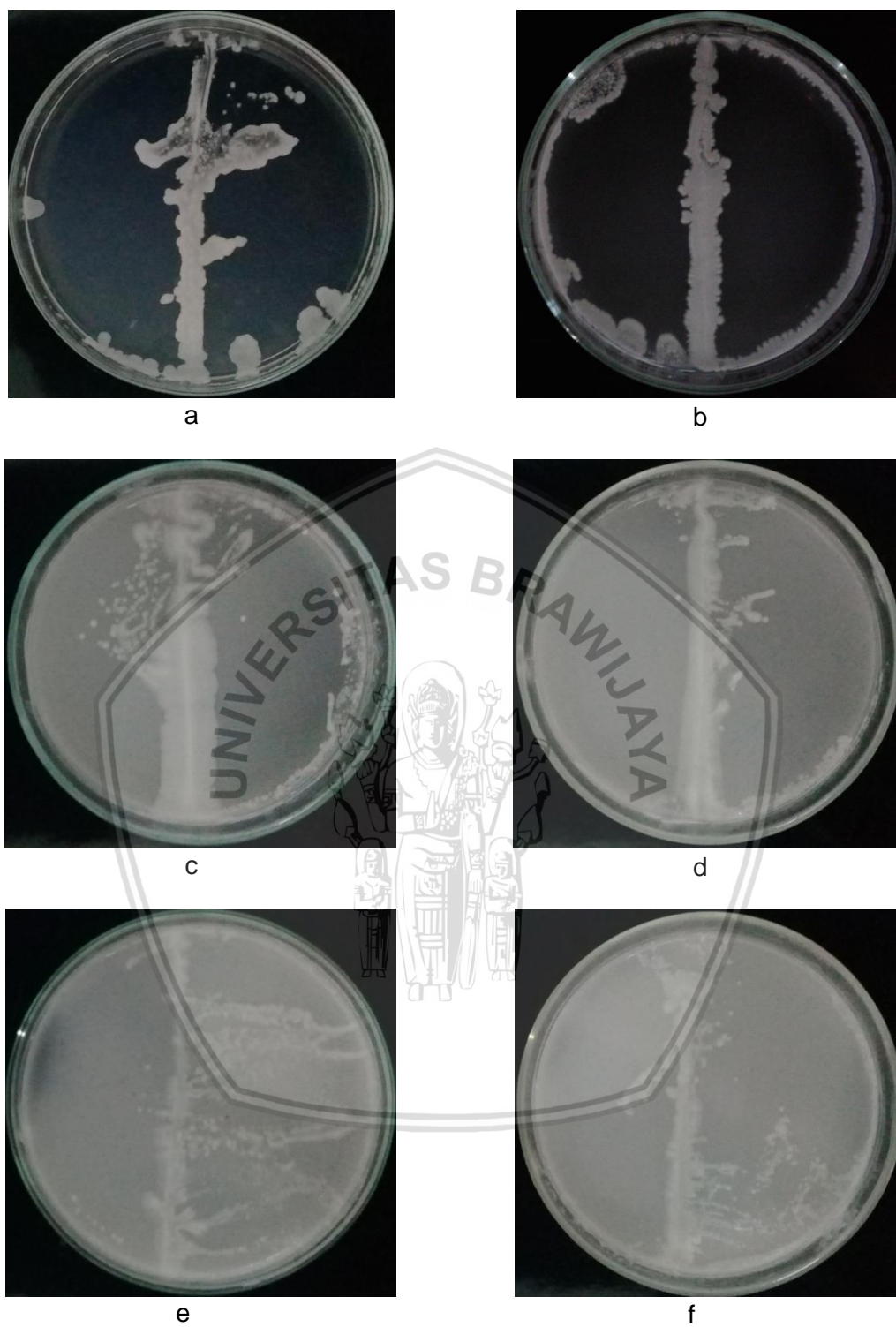
Gambar Lampiran 5. Koloni *Pichia* sp. (2) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



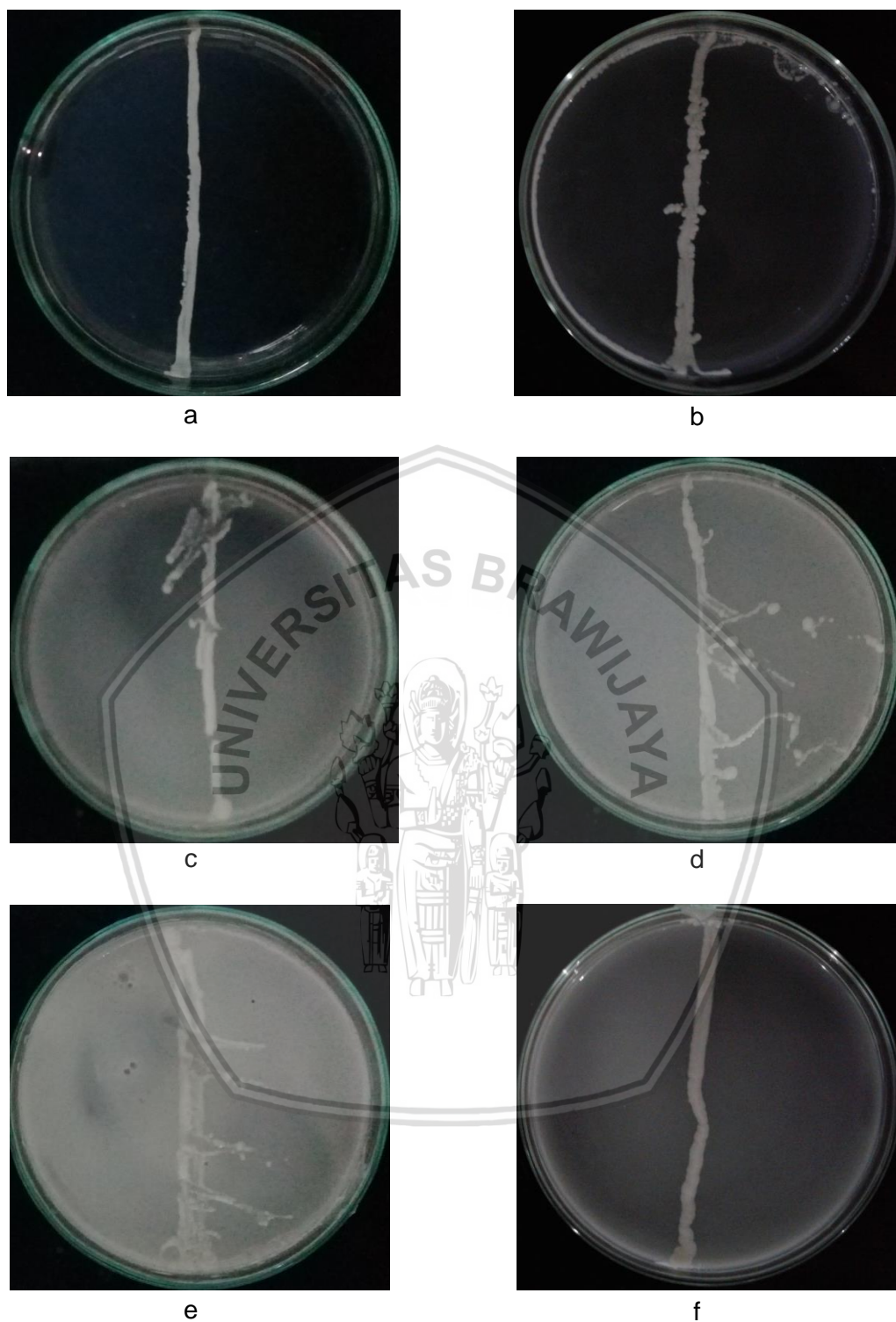
Gambar Lampiran 6. Koloni *Pichia* sp. (3) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



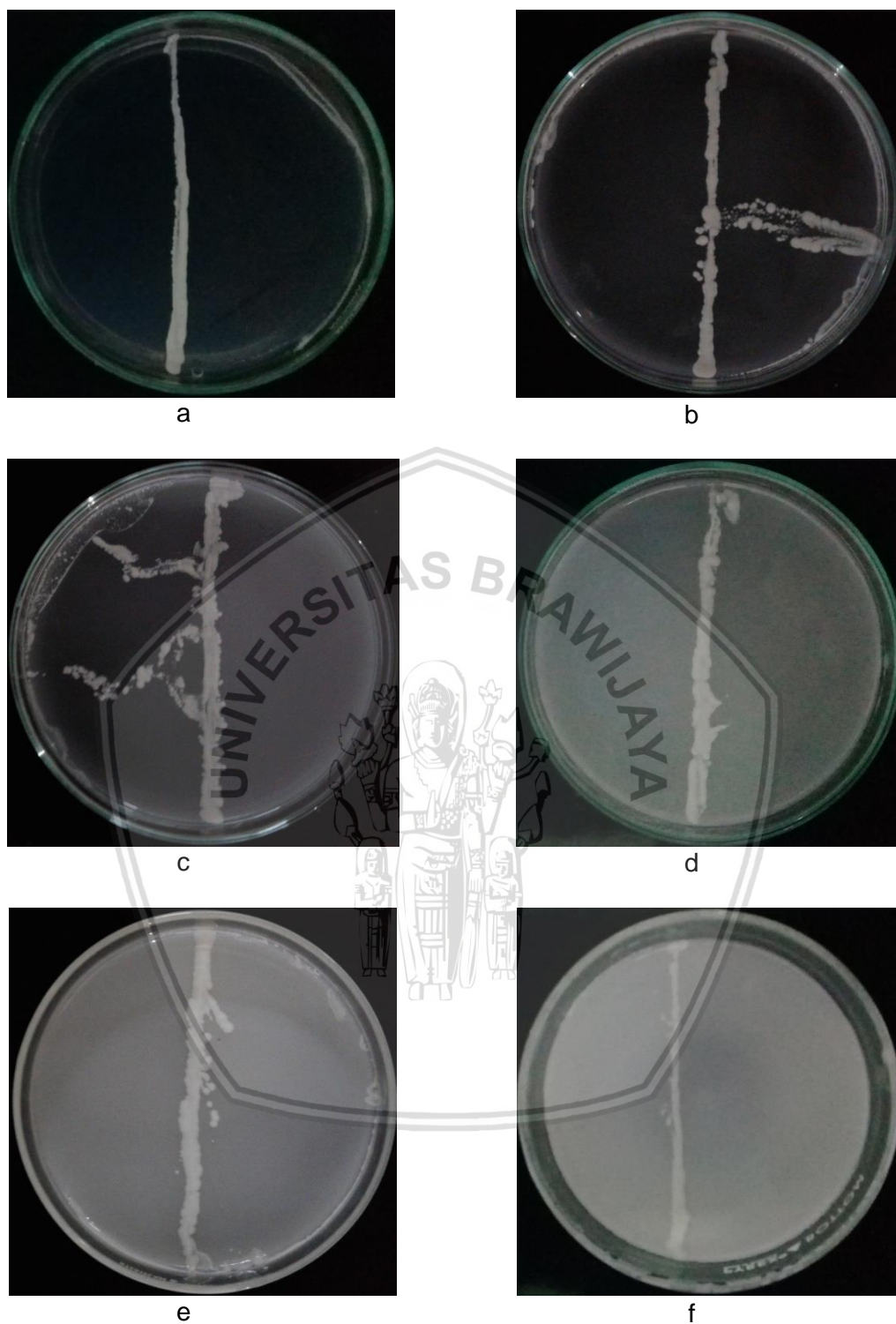
Gambar Lampiran 7. Koloni *Saccharomyces* sp. (2) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



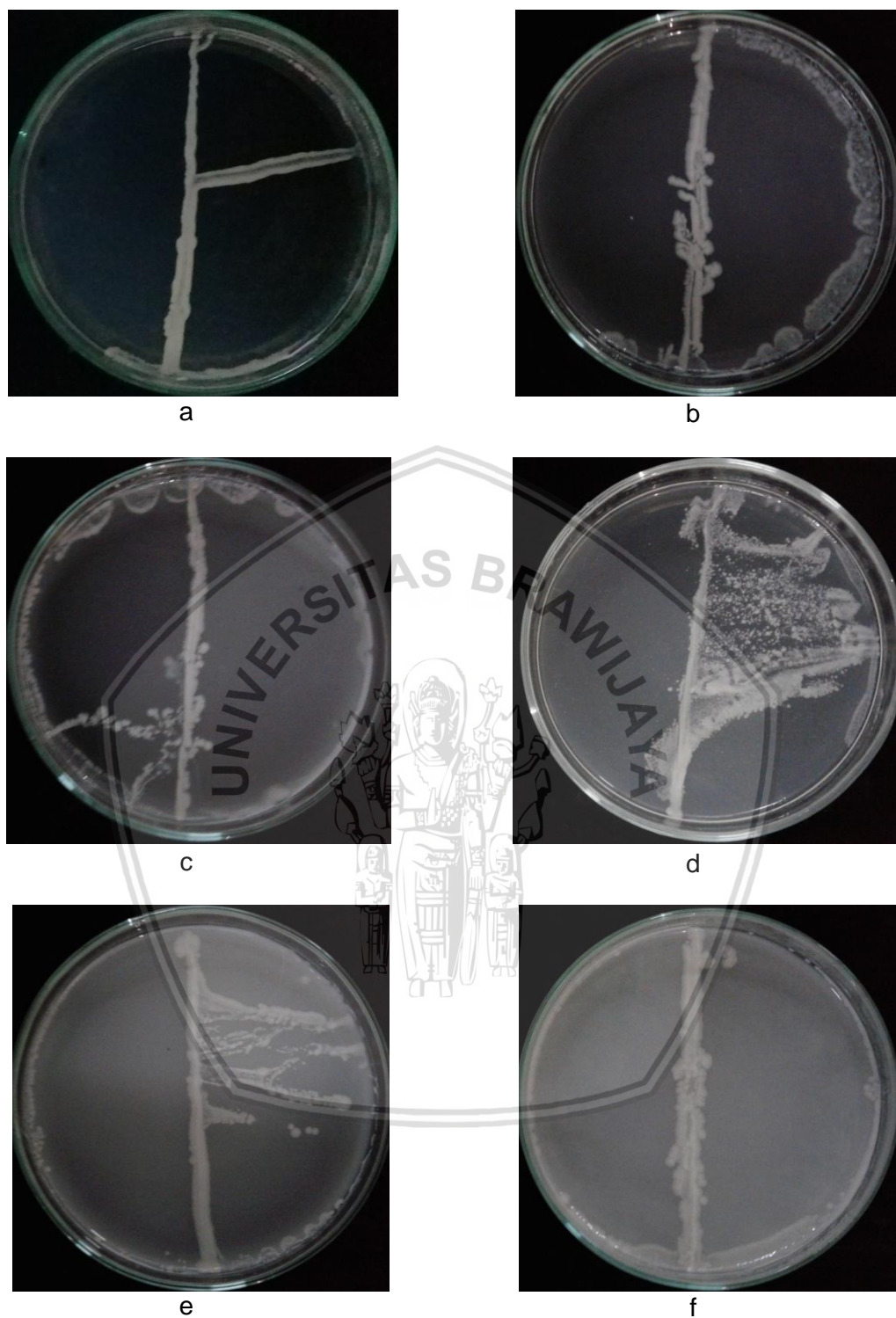
Gambar Lampiran 8. Koloni *Candida* sp. (2) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



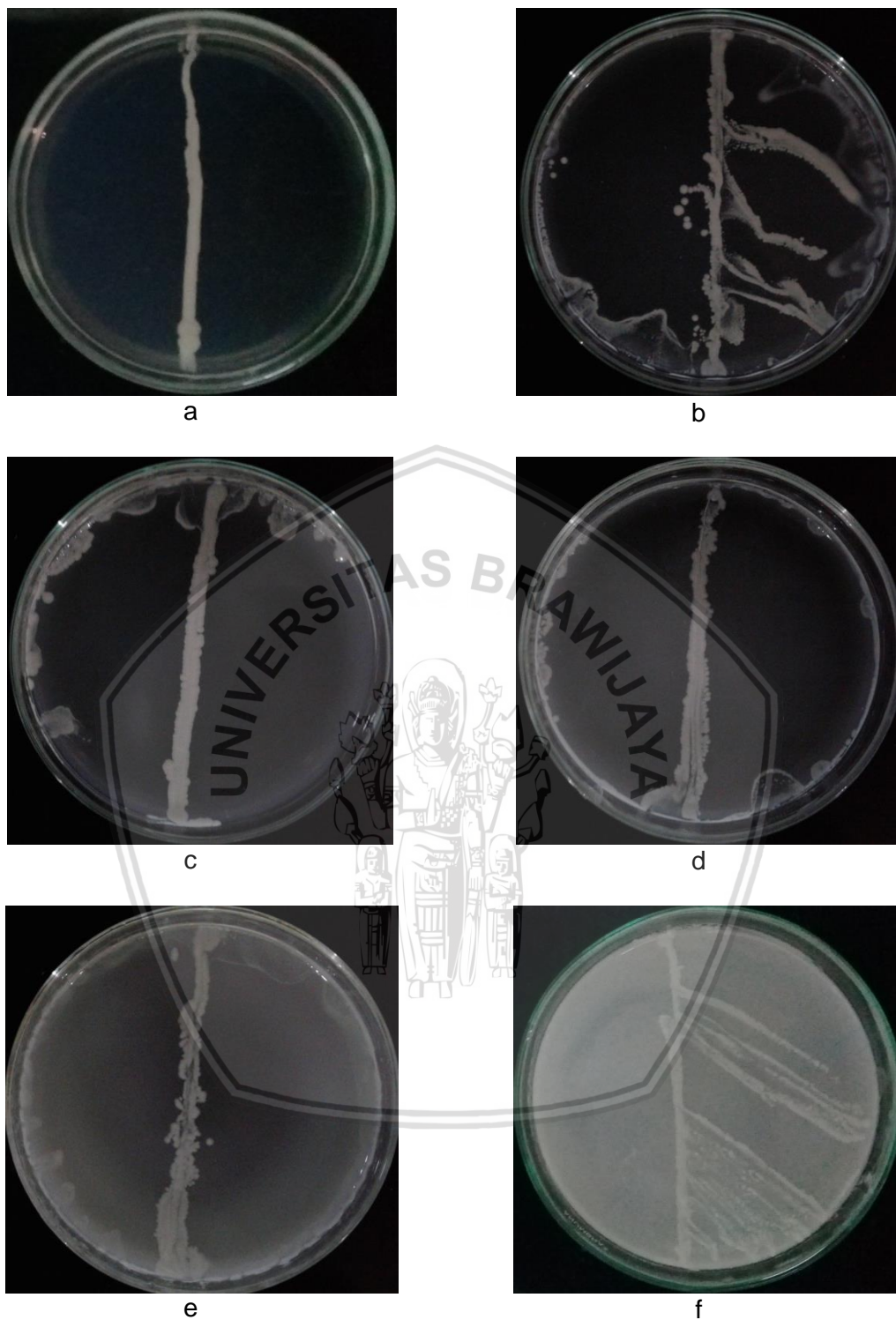
Gambar Lampiran 9. Koloni *Debaryomyces* sp. pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



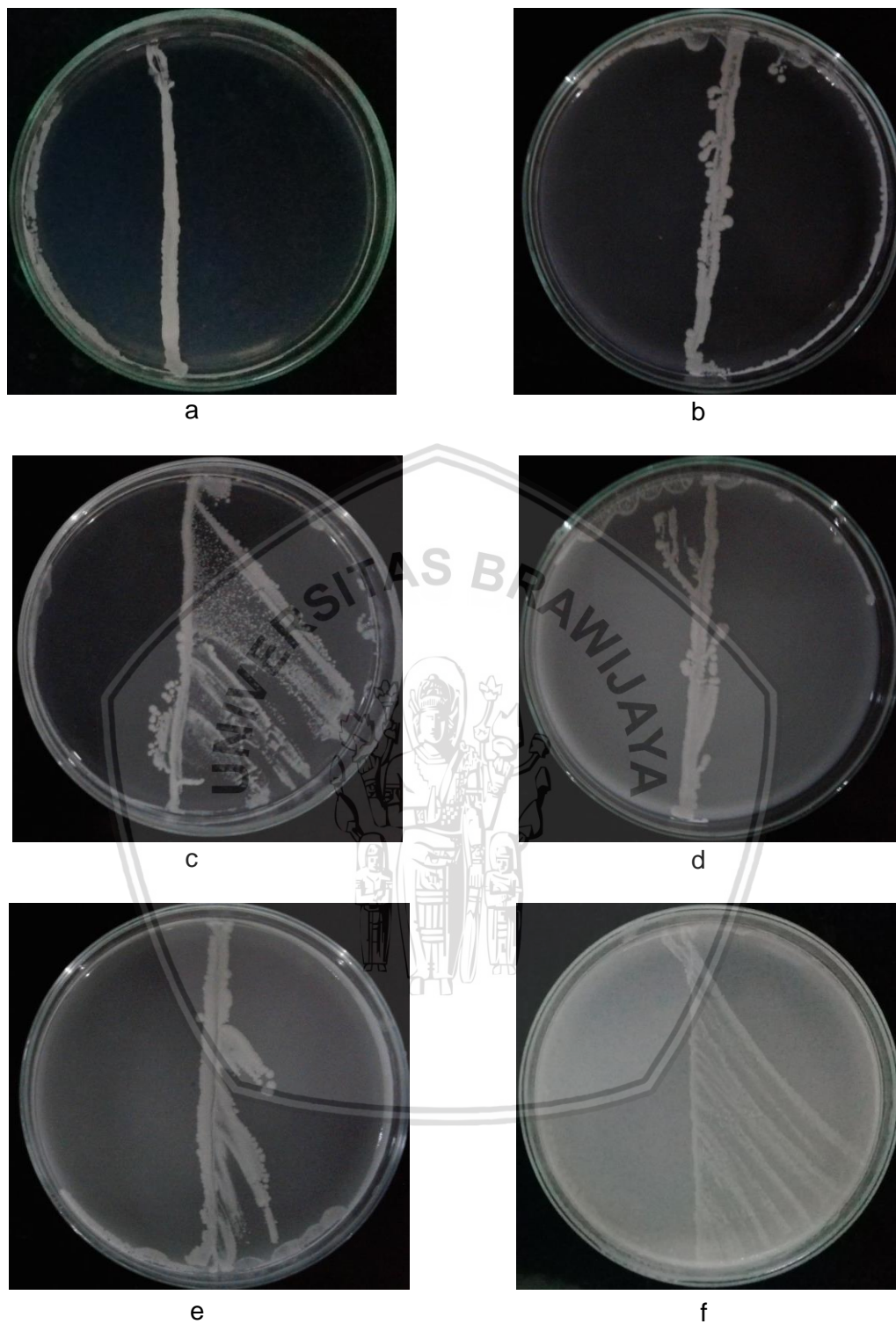
Gambar Lampiran 10. Koloni *Issatchenkia* sp. pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



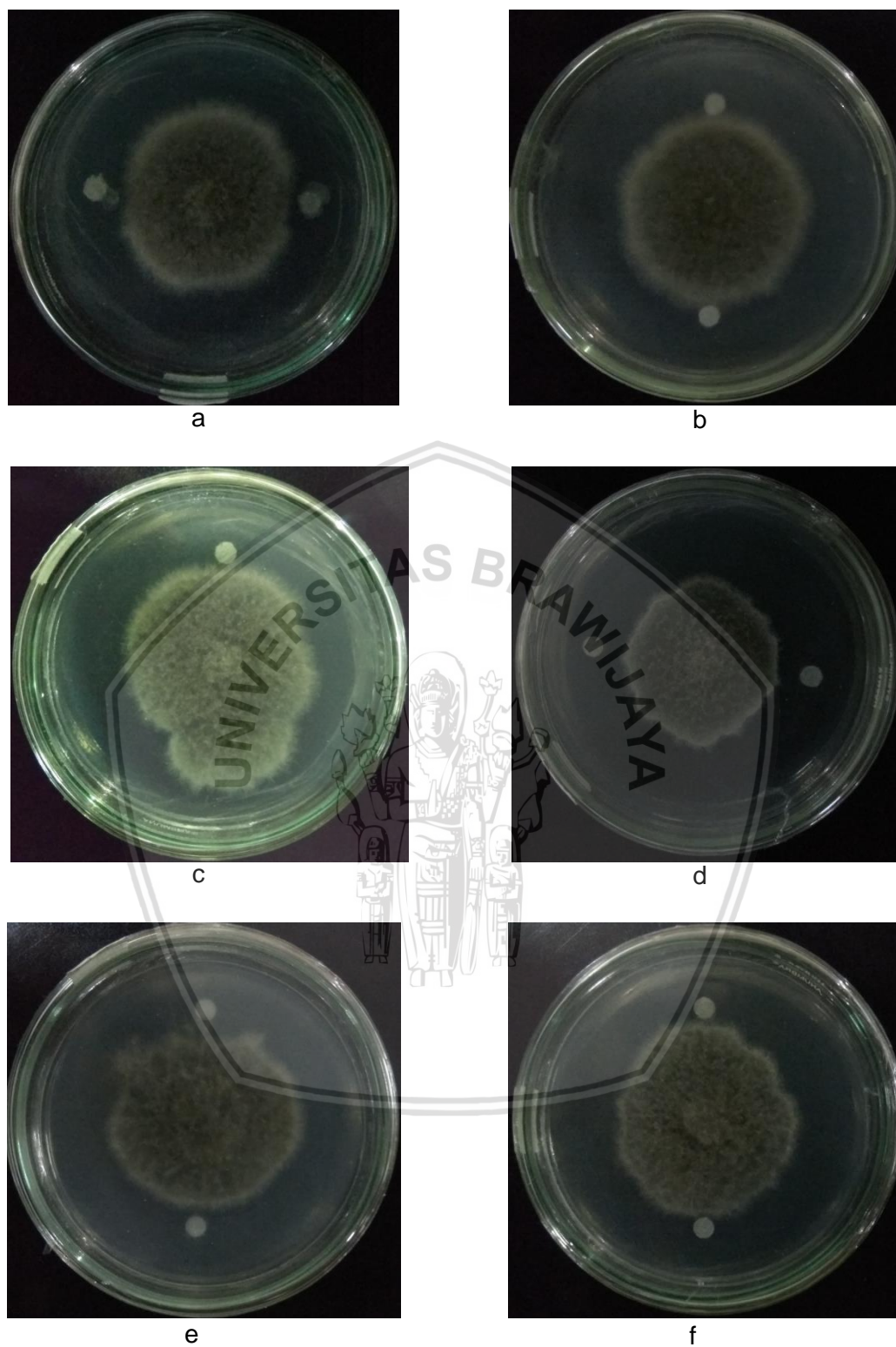
Gambar Lampiran 11. Koloni *Candida* sp. (3) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



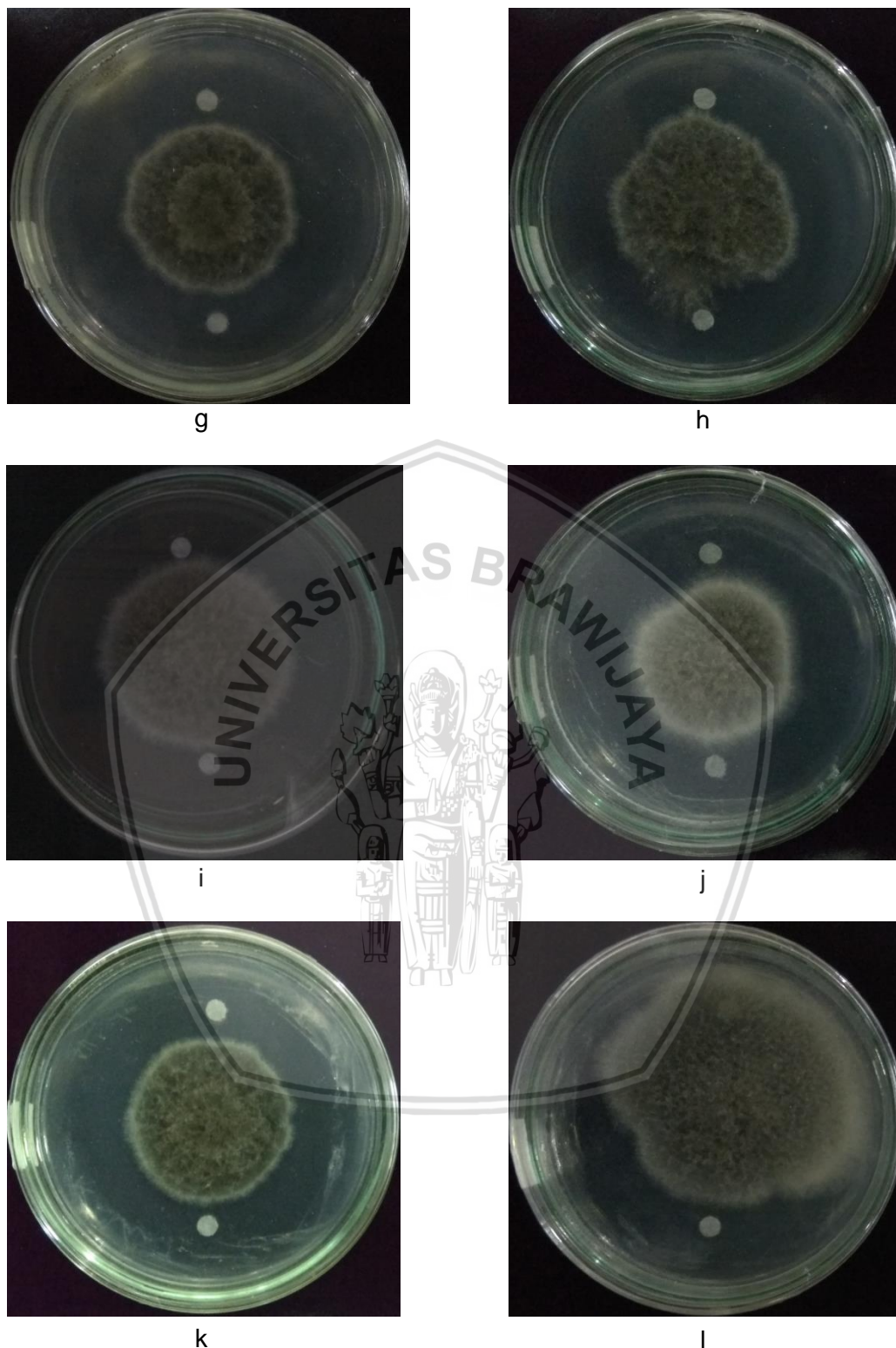
Gambar Lampiran 12. Koloni *Candida* sp. (4) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



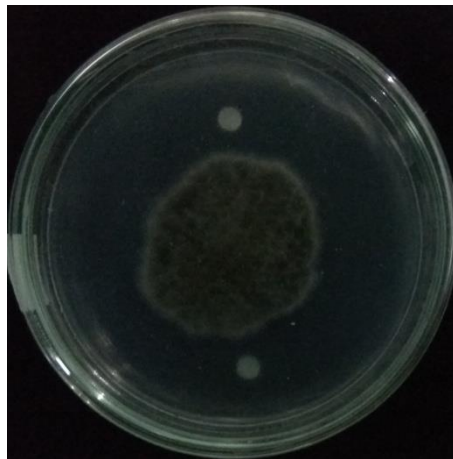
Gambar Lampiran 13. Koloni *Pichia* sp. (4) pada media PDA yang mengandung fungisida metil tiofanat pada konsentrasi yang berbeda. a: 0 kali (kontrol), b: 2 kali, c: 4 kali, d: 6 kali, e: 8 kali, f: 10 kali konsentrasi anjuran



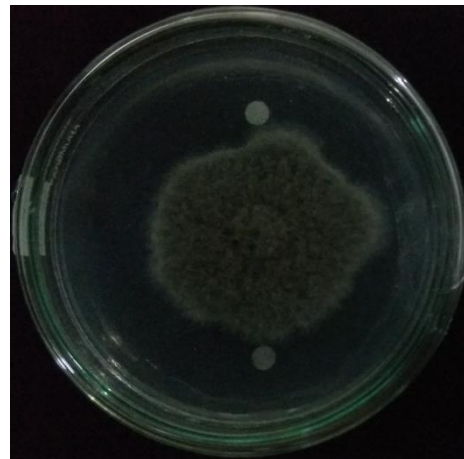
Gambar Lampiran 14. Rerata diameter koloni *Alternaria porri* pada uji degradasi fungisida metil tiofanat. a: Kontrol (+), b: Kontrol (-), c: *Saccharomyces* sp. (1), d: *Candida* sp. (1), e: *Schizosaccaromyces* sp., f: *Pichia* sp. (1)



Gambar Lampiran 15. Rerata diameter koloni *Alternaria porri* pada uji degradasi fungisida metil tiofanat. g: *Pichia* sp. (2), h: *Pichia* sp. (3), i: *Saccharomyces* sp. (2), j: *Candida* sp. (2), k: *Debaryomyces* sp., l: *Issatchenkia* sp.



m



n



o

Gambar Lampiran 16. Rerata diameter koloni *Alternaria porri* pada uji degradasi fungisida metil tiofanat. m: *Candida* sp. (3), n: *Candida* sp. (4), o: *Pichia* sp. (4)

Tabel Lampiran 1. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Saccharomyces* sp. (1)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	3,876	0,775	1,064 ^{tn}	3,11
Galat	12	8,744	0,729		
Total	17	12,620			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyataTabel Lampiran 2. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Candida* sp. (1)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	0,400	0,080	3,843*	3,11
Galat	12	0,250	0,021		
Total	17	0,650			

Keterangan : *berbeda nyata

Tabel Lampiran 3. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Schizosaccharomyces* sp.

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	1,471	0,294	0,665 ^{tn}	3,11
Galat	12	5,308	0,442		
Total	17	6,779			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyataTabel Lampiran 4. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Pichia* sp. (1)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	9,147	1,829	1,302 ^{tn}	3,11
Galat	12	16,860	1,405		
Total	17	26,007			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyataTabel Lampiran 5. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Pichia* sp. (2)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	14,909	2,982	1,950 ^{tn}	3,11
Galat	12	18,345	1,529		
Total	17	33,254			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyataTabel Lampiran 6. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Pichia* sp. (3)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	5,466	1,093	2,480 ^{tn}	3,11
Galat	12	5,289	0,441		
Total	17	10,755			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 7. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Saccharomyces* sp. (2)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	4,010	0,802	1,100 ^{tn}	3,11
Galat	12	8,754	0,729		
Total	17	12,764			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 8. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Candida* sp. (2)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	1,853	0,371	0,700 ^{tn}	3,11
Galat	12	6,349	0,529		
Total	17	8,202			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 9. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Debaryomyces* sp.

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	22,341	4,468	1,493 ^{tn}	3,11
Galat	12	35,917	2,993		
Total	17	58,258			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 10. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Issatchenkia* sp.

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	1,268	0,254	0,227 ^{tn}	3,11
Galat	12	13,431	1,119		
Total	17	14,699			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 11. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Candida* sp. (3)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	17,429	3,486	1,528 ^{tn}	3,11
Galat	12	27,371	2,281		
Total	17	44,800			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 12. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Candida* sp. (4)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit ^{tn}	F-Tab5%
Perlakuan	5	1,751	0,350	1,291	3,11
Galat	12	3,257	0,271		
Total	17	5,009			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 13. Analisis ragam uji adaptasi khamir *Pichia* sp. (4)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	5	13,001	2,600	0,878 ^{tn}	3,11
Galat	12	35,531	2,961		
Total	17	48,532			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 14. Analisis ragam uji degradasi hari 1

SK	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab5%
Perlakuan	14	0.50	0.04	0.74 ^{tn}	2.04
Galat	30	1.45	0.05		
Total	44	1.94			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 15. Analisis ragam uji degradasi hari 2

SK	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	14	0.46	0.03	1.28 ^{tn}	2.04
Galat	30	0.77	0.03		
Total	44	1.23			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 16. Analisis ragam uji degradasi hari 3

SK	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	14	0.82	0.06	1.05 ^{tn}	2.04
Galat	30	1.68	0.06		
Total	44	2.50			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 17. Analisis ragam uji degradasi hari 4

SK	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	14	2.22	0.16	1.19 ^{tn}	2.04
Galat	30	3.99	0.13		
Total	44	6.20			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 18. Analisis ragam uji degradasi hari 5

SK	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	14	5.30	0.38	1.82 ^{tn}	2.04
Galat	30	6.25	0.21		
Total	44	11.55			

Keterangan : ^{tn} tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 19. Analisis ragam uji degradasi hari 6

SK	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	14	8.86	0.63	2.09*	2.04
Galat	30	9.06	0.30		
Total	44	17.92			

Keterangan : *berbeda nyata

Tabel Lampiran 20. Analisis ragam uji degradasi hari 7

SK	db	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	14	24.13	1.72	2.85*	2.04
Galat	30	18.17	0.61		
Total	44	42.30			

Keterangan : *berbeda nyata

